

Rec'd PCT/PTO 02 FEB 2005

10/523019 #2  
PCT/JP 03/09855

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

04.08.03

REC'D 19 SEP 2003

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2002年 8月 2日

出 願 番 号  
Application Number: 特願2002-226750  
[ST. 10/C]: [JP2002-226750]

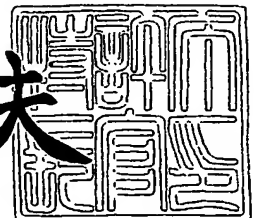
出 願 人  
Applicant(s): 日本電気株式会社

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 9月 4日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願

【整理番号】 34103700

【提出日】 平成14年 8月 2日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 B81B 1/00

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都港区芝五丁目 7 番 1 号 日本電気株式会社内

    【氏名】 飯田 一浩

【特許出願人】

    【識別番号】 000004237

    【氏名又は名称】 日本電気株式会社

【代理人】

    【識別番号】 100110928

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 速水 進治

    【電話番号】 03-3461-3687

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 138392

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

    【物件名】 明細書 1

    【物件名】 図面 1

    【物件名】 要約書 1

    【包括委任状番号】 0110433

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 分析チップおよび分析装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 試料中に含まれる特定成分の検出を行う分析チップであって、前記試料の通る流路と、該流路の一部に設けられ、前記特定成分と接触すると発色、発光、変色、脱色または消光する検出部と、該検出部に光を照射する第一の照明部材と、を備えることを特徴とする分析チップ。

【請求項 2】 試料中に含まれる特定成分の検出を行う分析チップであって、前記試料の通る流路と、該流路の一部に設けられ、前記特定成分と接触すると発色、発光、変色、脱色または消光する検出部と、該検出部を覆うように形成されたマイクロレンズと、を備えることを特徴とする分析チップ。

【請求項 3】 試料中に含まれる特定成分の検出を行う分析チップであって、前記試料の通る流路が設けられた基板と、前記流路の一部に設けられ、前記特定成分と接触すると発色、発光、変色、脱色または消光する検出部と、該検出部に光を照射する第一の照明部材と、を備えることを特徴とする分析チップ。

【請求項 4】 試料中に含まれる特定成分の検出を行う分析チップであって、前記試料の通る流路が設けられた基板と、前記流路の一部に設けられ、前記特定成分と接触すると発色、発光、変色、脱色または消光する検出部と、該検出部を覆うように形成されたマイクロレンズと、を備えることを特徴とする分析チップ。

【請求項 5】 請求項 4 に記載の分析チップにおいて、前記流路を覆う被覆部材をさらに備え、該被覆部材と前記マイクロレンズとが一体成形されたことを特徴とする分析チップ。

【請求項 6】 請求項 4 または 5 に記載の分析チップにおいて、前記検出部に光を照射する第一の照明部材をさらに備えたことを特徴とする分析チップ。

【請求項 7】 請求項 6 に記載の分析チップにおいて、前記第一の照明部材が、前記流路の壁面と、前記基板の表面との間に配されたことを特徴とする分析チップ。

【請求項 8】 請求項 6 に記載の分析チップにおいて、前記第一の照明部材

が、前記流路の底面と、前記基板の下面との間に配されたことを特徴とする分析チップ。

【請求項 9】 請求項 1、3、6 乃至 8 いずれかに記載の分析チップにおいて、前記第一の照明部材が光導波路であることを特徴とする分析チップ。

【請求項 10】 請求項 1 乃至 9 いずれかに記載の分析チップにおいて、前記検出部が、前記特定成分と反応することにより発色、発光、変色、脱色または消光する試薬を含むことを特徴とする分析チップ。

【請求項 11】 請求項 10 に記載の分析チップにおいて、前記試薬が前記検出部において均一に分布していることを特徴とする分析チップ。

【請求項 12】 請求項 11 に記載の分析チップにおいて、前記検出部に沿ってスケールがさらに設けられたことを特徴とする分析チップ。

【請求項 13】 請求項 10 乃至 12 いずれかに記載の分析チップにおいて、前記試薬が、酵素、抗体、抗原および蛍光物質からなる群から選択される 1 種以上を含むことを特徴とする分析チップ。

【請求項 14】 請求項 1 乃至 13 いずれかに記載の分析チップと、該分析チップの側面に設けられ、前記流路を側面から照明する第二の照明部材と、を含む分析装置。

【請求項 15】 請求項 14 に記載の分析装置において、前記第二の照明部材が集光レンズであることを特徴とする分析装置。

【請求項 16】 請求項 14 に記載の分析装置において、前記第二の照明部材が発光部材であることを特徴とする分析装置。

【請求項 17】 請求項 16 に記載の分析装置において、前記発光部材が電球、LED またはブラックライトであることを特徴とする分析装置。

【請求項 18】 試料中に含まれる特定成分の検出を行う分析チップであって、

前記試料の通る流路が設けられた基板と、

前記流路に前記試料を導入するための導入口と、

前記流路の前記導入口より下流側に設けられ、前記特定成分と特異的に結合する標識物質の配置された反応部と、

前記流路の前記反応部より下流側に設けられ、前記特定成分と結合した前記標識物質を捕捉する捕捉部と、  
を備えることを特徴とする分析チップ。

【請求項 19】 請求項 18 に記載の分析チップにおいて、前記流路のうち前記捕捉部が設けられた領域の流路の幅が、当該流路の進行方向へ向かって次第に狭くなっていることを特徴とする分析チップ。

【請求項 20】 請求項 18 に記載の分析チップにおいて、前記捕捉部における前記標識物質の密度が、前記流路の下流側へ向かうにつれて高くなっていることを特徴とする分析チップ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

特定の物質を検出すること、またはその物質の濃度を測定することが可能な分析チップおよび分析装置に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、タンパク質や核酸などの分析機能をチップ上に備えた分析チップの研究開発が活発に行われている（日経バイオビジネス 2002年2月号 25-27頁）。これらの分析用チップには、微細加工技術を用いて微細な分析用流路等が設けられており、極めて少量の試料を当該チップに載せ、専用の自動分析機器により迅速に分析結果を得ることができるようになっている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、従来の分析チップを用いた分析においては、最終的な分析結果を得るには当該チップとは別に、検出機能・分析機能を持つ大型の外部機器が必要であり、分析チップ単体では分析結果までを得ることはできなかった。たとえば、特開 2001-4628 号公報に記載の技術においては、マイクロチップ単体では分析を完結することができず、熱レンズ顕微鏡等などの外部機器を併用する必要がある。したがって、そのような分析機器を備えた施設内へ検体を搬送し

、検出・分析を実施する必要があることから、分析結果を得るまでに相当の時間を要するという課題を有していた。

#### 【0004】

特に臨床の現場においては、診断の基となるデータなどの測定結果をできる限り迅速に入手することが強く要請されている。

また、分析・検査には様々な種類の項目が存在し、それらの項目毎に専用の分析チップが作製されている。これらの分析チップは、各々で必要な外部機器も異なるため、複数種類の外部機器を購入する必要が生じる。このことは、分析チップによる検査・分析の普及の妨げ、特に家庭内での普及には大きな妨げとなる。

#### 【0005】

そこで本発明は、上記事情に鑑み、検出・分析のための特別な外部機器を必要とせず、なおかつ検体を適用後、その場で迅速に目視により分析結果が得られる分析チップを提供することを目的とする。

#### 【0006】

##### 【課題を解決するための手段】

上記課題を解決する本発明によれば、試料中に含まれる特定成分の検出を行う分析チップであって、前記試料の通る流路と、該流路の一部に設けられ、前記特定成分と接触すると発色、発光、変色、脱色または消光する検出部と、該検出部に光を照射する第一の照明部材と、を備えることを特徴とする分析チップが提供される。

#### 【0007】

また本発明によれば、試料中に含まれる特定成分の検出を行う分析チップであって、前記試料の通る流路が設けられた基板と、前記流路の一部に設けられ、前記特定成分と接触すると発色、発光、変色、脱色または消光する検出部と、該検出部に光を照射する第一の照明部材と、を備えることを特徴とする分析チップが提供される。

#### 【0008】

本発明の分析チップは上記のような構成を有するため、目視によりその場で上記試料の分析結果を得ることが可能となる。さらに、従来の分析チップのように

検出・分析用機器を必要としないため、場所を選ばず分析を実施し、迅速に分析結果を得ることが可能となる。

#### 【0009】

また本発明によれば、試料中に含まれる特定成分の検出を行う分析チップであって、前記試料の通る流路と、該流路の一部に設けられ、前記特定成分と接触すると発色、発光、変色、脱色または消光する検出部と、該検出部を覆うように形成されたマイクロレンズと、を備えることを特徴とする分析チップが提供される。

#### 【0010】

また本発明によれば、試料中に含まれる特定成分の検出を行う分析チップであって、前記試料の通る流路が設けられた基板と、前記流路の一部に設けられ、前記特定成分と接触すると発色、発光、変色、脱色または消光する検出部と、該検出部を覆うように形成されたマイクロレンズと、を備えることを特徴とする分析チップが提供される。

#### 【0011】

本発明の分析チップはマイクロレンズを備えていることから、上記検出部における発色、発光、変色、脱色または消光の視認性が向上する。したがって、上記検出部が微少であっても発色、発光、変色、脱色または消光を正確に視認することができるため、分析チップ全体を縮小化することが可能となる。またその場合、分析に必要な試料の量も少量化することが可能となる。

#### 【0012】

さらに、上記特定成分の濃度と、上記発光または色彩との関係をあらかじめ把握しておくことにより、試料中に含まれる特定成分の濃度を知ることも可能となる。

#### 【0013】

なお、本発明におけるマイクロレンズとは、微小なレンズであって、像を拡大することのできるものをいう。フレネル型レンズなどもマイクロレンズに含まれる。

#### 【0014】

また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、前記流路を覆う被覆部材をさらに備え、該被覆部材と前記マイクロレンズとが一体成形されたことを特徴とする分析チップが提供される。

#### 【0015】

本発明の分析チップは、被覆部材およびマイクロレンズが一体成形されている。そのため、上記分析チップの製造においては、両者を接合する工程を省略することができる。また、接着剤、融着あるいは超音波による圧着による接合の場合、被覆部材やマイクロレンズの屈折率が接合面において変化する可能性があり、上記流路内の視認性が低下することも考えられるが、本発明の分析チップにおいてはそのような懸念が少ない。

#### 【0016】

また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、前記検出部を照明する第一の照明部材をさらに備えたことを特徴とする分析チップが提供される。

#### 【0017】

本発明の分析チップにおいては、上記検出部が上記第一の照明部材により照明されるため、当該検出部の視認性が向上する。したがって、より正確に分析結果を求めることが可能となる。

#### 【0018】

また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、上記第一の照明部材が、上記流路の壁面と、上記基板の表面との間に配されたことを特徴とする分析チップが提供される。

#### 【0019】

また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、上記第一の照明部材が、上記流路の底面と、上記基板の下面との間に配されたことを特徴とする分析チップが提供される。

#### 【0020】

本発明の分析チップにおいては、上記流路の底が上記第一の照明部材により当該分析チップの下面方向から照らされる。そのため、上記検出領域の視認性が向上し、正確な分析結果を求めることが可能となる。



## 【 0 0 2 1 】

また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、前記第一の照明部材が光導波路であることを特徴とする分析チップが提供される。

## 【 0 0 2 2 】

本発明の分析チップに設けられた光導波路に光が供給されると、当該光導波路から滲み出す間接光により上記検出部が照明される。したがって、分析チップ全体を直接光により照明する場合と比較して、上記検出部の像をコントラストの高い状態で得ることができる。よって、上記検出部の視認性が向上し、正確な分析結果を求めることが可能となる。

## 【 0 0 2 3 】

また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、前記検出部が、前記特定成分と反応することにより発色、発光、変色、脱色または消光する試薬を含むことを特徴とする分析チップが提供される。

## 【 0 0 2 4 】

本発明の分析チップは上記のような試薬を備えているため、正確かつ迅速な分析を実現することが可能となる。

## 【 0 0 2 5 】

また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、前記試薬が前記検出部において均一に分布していることを特徴とする分析チップが提供される。

## 【 0 0 2 6 】

本発明の分析チップにおいては、上記検出部における発色、発光、変色、脱色または消光した領域の距離あるいは面積を計測することにより、上記試料中に含まれている上記特定成分を定量することができる。このとき、定量結果は連続量として得られるため、上記試料中の上記特定成分の濃度を正確に求めることが可能となる。

## 【 0 0 2 7 】

また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、前記検出部に沿ってスケールがさらに設けられたことを特徴とする分析チップが提供される。

## 【 0 0 2 8 】

本発明の分析チップによれば、上記スケールを用いることにより上記検出部における反応領域を簡便かつ迅速に測定できるため、瞬時に上記試料中の上記特定成分の濃度を求めることが可能となる。

#### 【 0 0 2 9 】

また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、前記試薬が、酵素、抗体、抗原および蛍光物質からなる群から選択される 1 種以上を含むことを特徴とする分析チップが提供される。

#### 【 0 0 3 0 】

本発明の分析チップは、上記のような試薬を有しているため、上記特定成分のみを選択性よく、かつ効率的に検出することが可能となる。

#### 【 0 0 3 1 】

また本発明によれば、上記の分析チップと、該分析チップの側面に設けられ、前記流路を側面から照明する第二の照明部材と、を含む分析装置が提供される。

#### 【 0 0 3 2 】

本発明の分析装置によれば、上記流路が上記第二の照明部材により照明されるため、上記検出部の視認性が向上する。したがって、より正確に分析結果を求めることが可能となる。

#### 【 0 0 3 3 】

また本発明によれば、上記の分析装置において、前記第二の照明部材が集光レンズであることを特徴とする分析装置が提供される。

#### 【 0 0 3 4 】

本発明の分析装置において、太陽光や電灯など、随時利用可能な照明による光を上記集光レンズにより集光して利用する。このため、大がかりな装置を必要とせず、上記発色、変色、脱色反応の視認性を簡単に向上させることができる。

#### 【 0 0 3 5 】

また本発明によれば、上記の分析装置において、前記第二の照明部材が発光部材であることを特徴とする分析装置が提供される。

#### 【 0 0 3 6 】

また本発明によれば、前記発光部材が電球、LEDまたはブラックライトであ

ることを特徴とする分析装置が提供される。

#### 【0037】

本発明の分析装置によれば、たとえば電球やLED (Light Emitting Diode) など通常の発光部材による補助照明により、極めて光量の少ない環境であっても分析を実行し、その結果を得ることが可能となる。

#### 【0038】

また本発明によれば、試料中に含まれる特定成分の検出を行う分析チップであって、前記試料の通る流路が設けられた基板と、前記流路に前記試料を導入するための導入口と、前記流路の前記導入口より下流側に設けられ、前記特定成分と特異的に結合する標識物質の配置された反応部と、前記流路の前記反応部より下流側に設けられ、前記特定成分と結合した前記標識物質を捕捉する捕捉部と、を備えることを特徴とする分析チップが提供される。この分析チップによれば、前記特定成分と結合した前記標識物質が上記捕捉部に捕捉されたことを確認することにより簡潔に上記特定成分を検出することが可能となる。

#### 【0039】

また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、前記流路のうち前記捕捉部が設けられた領域の流路の幅が、当該流路の進行方向へ向かって次第に狭くなっていることを特徴とする分析チップが提供される。また本発明によれば、上記の分析チップにおいて、前記捕捉部における前記標識物質の密度が、前記流路の下流側へ向かうにつれて高くなっていることを特徴とする分析チップが提供される。これらの分析チップによれば、上記特定成分の検出に加え、定量をすることも可能となる。

#### 【0040】

##### 【発明の実施の形態】

以下に本発明の好適な実施の形態を挙げて、本発明を説明する。

#### 【0041】

##### (第一の実施の形態)

図1 (a) は、本実施形態にかかる分析チップ100の上面図である。また、図1 (b) および図1 (c) は、それぞれ図1 (a) 中のA-A'断面図および

B-B'断面図を表している。

#### 【0042】

分析チップ100は、流路102が設けられた基板101上に、透明な被覆106が設けられており、被覆106の上にはさらにマイクロレンズ103が設けられている。また、被覆106には、分析対象の試料を流路102に導入するための試料導入口104と、分析試料を導入したときに流路102内の空気を排気できるようにするための排気口105が設けられている。

#### 【0043】

次に、分析チップ100の使用方法について説明する。分析対象の試料は、試料導入口104から注入し、毛細管効果あるいはポンプを用いた圧入などにより流路102に展開させる。流路102には、分析対象の試料中に含まれる特定成分と相互作用することにより発色、発光、変色、脱色または消光する物質ないし試薬が設けられる。こうすることにより、流路102において当該特定成分を検出することができる。また、後述するように、当該試料に含まれる特定成分の濃度を知ることが可能となる。さらに、分析チップ100にはマイクロレンズ103が設けられているため、流路102内の様子を拡大して観察できる。したがって、流路102中における発色、発光、変色、脱色または消光をより詳細に視認することが可能である。さらに、流路102が極めて細い場合でも当該発色、発光、変色、脱色または消光を視認することができる。したがって、流路102が細くても足りるため、分析チップ100による分析では、分析に供する試料を少量化することができる。また、流路を複数とすることもでき、この場合、流路が細いことから多数の流路を集積することが可能である。したがって、1つの分析チップで多数の項目にかかる分析を同時に実施することが可能となる。

#### 【0044】

ここで、被覆106としては、上記のように全体が透明なものを用いてもよいが、基板101に接合したときに流路102の上方に位置する領域のみを透明としたものを採用してもよい。この場合、流路102以外の部分からの迷光が遮断されることから、流路102内の視認性が向上する。

#### 【0045】

分析チップ100の流路102には、図3に示されるように、上記特定成分と相互作用することにより発色する試薬を含有する試薬層107が設けられている。図3(a)は分析チップ100の上面図を示し、図中のA-A'断面図、B-B'断面図がそれぞれ図3(b)、(c)である。図3(b)および(c)に示されるように、試薬層107が流路102中に詰められている。そして、試料導入口104から分析対象の試料を注入すると、当該試料は試薬層107に浸透していくこととなる。

#### 【0046】

次に、上記試料が試薬層107に浸透する際の動作について図4を参照して説明する。図4は、図3における試薬層107付近を拡大して示している。図4(a)は、試料108が試薬層107の左端へ到達して間もない状態を示している。この状態から試料108は、時間の経過とともに図中の矢印の方向へと展開していく。図4(b)は、図4(a)の状態からある程度の時間が経過した時点の状態を示している。試料が試薬層107中を展開した結果、試料界面110が試薬層107の中程まで到達している。そして、試薬層107の左端から試料界面110までの領域は、試料に含まれる特定成分と試薬層107中に含有される試薬とが吸着して反応することにより発色領域109が形成されている。図4(c)は、図4(b)の状態からさらに時間が経過した時点の状態が示されている。試料界面110は図4(b)の状態よりも右方へ移動しているが、発色領域109の右端は試料界面110とは一致しておらず、図中の点線までに留まっている。これは、試料界面110が当該点線に到達したときに、試料中に含有されていたすべての特定成分が試薬層107中の試薬と吸着して反応し尽くしたことから、点線より右方の領域においては発色しないためである。

#### 【0047】

さらに、本実施形態では、試薬層107に単位体積あたり一定量の試薬を含有させておき、発色領域109が右方に展開した距離を測定することにより、試料中に含まれている特定成分を定量することが可能となっている。たとえば図4(c)においては、試薬層107の左端から発色領域109の右端の距離をスケール111を使用し、目視により知ることができる。なお、スケール111につい

では、実際にはたとえば図3 (a) に示されるように、被覆106上にプリントされる。そして、マイクロレンズ103を通じて、試薬層107とスケール111とを拡大した状態で同時に視認できるようになっている。ここで、スケール111については、図3 (a) のように配置する形態に限らず、たとえば被覆106上にマイクロレンズ103に沿って設けることもできる。

#### 【0048】

以上より、本実施形態の分析チップによれば、他の分析用機器を用いずに特定成分の定量分析を迅速に実施することが可能となる。

#### 【0049】

本実施形態の分析チップは、様々な物質を検出・定量することに応用できるが、グルコース、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルブミン、アルカリ性フォスファターゼ、アミラーゼ、カルシウムイオン、総コレステロール、過酸化脂質、クレアチニン、カリウムイオン、ビリルビン、総蛋白などの血液生化学検査；Hb s 抗原・抗体、HCV 抗原・抗体、HIV 抗体などの免疫血清学的検査；CEA、CA19-9、PSA、CA-125などの腫瘍マーカーの分析への応用が例示される。

#### 【0050】

たとえばグルコースの定量の場合、試薬層107として、グルコースオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、4-アミノアンチピリンおよびN-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-トルイジン・ナトリウムの混合微粒子またはこれらを含む乾燥試薬ビーズを使用し、発色する領域を計測することにより実施することができる。この場合の原理は以下のとおりである。水分を吸収してゲル化した上記試薬ビーズ内に1分子のグルコースが移行すると、グルコースオキシダーゼの作用により1分子のグルコン酸と1分子の過酸化水素とに分解される。次に、当該試薬ビーズ内において、この過酸化水素がペルオキシダーゼの作用により、それぞれ1分子の4-アミノアンチピリンおよびN-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-トルイジン・ナトリウムと反応し、キノン系色素が生成し、赤紫色に発色する。つまり、1分子のグルコースの存在が1分子のキノン系色素の生成により検出されることになる。したが

って、試薬層 107 の単位体積あたりの当該粒子含有量を一定とすることにより、試薬層 107 の単位体積あたりのグルコース検出量を設定し、当該検体中のグルコースの絶対量が測定できる。よって、当該検体のグルコース濃度を求めることが可能となる。

#### 【0051】

なお、上記の乾燥試薬ビーズは次のようにして作製することができる。まずバインダとして、アガロースやポリアクリルアミド、メチルセルロースなどの吸水性ポリマーを含むゾルを調製する。こうしたゾルは時間とともに自然にゲル化する。このゾルと、所定量のグルコースオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、4-アミノアンチピリンおよびN-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-トルイジン・ナトリウムを混合する。こうして得られたゾルを乾燥空气中に噴霧することにより液滴とする。当該液滴は落下中にゲル化しつつ乾燥するため、目的の乾燥試薬ビーズを得ることができる。

#### 【0052】

また、上記の乾燥試薬ビーズの作製方法として、次の方法を採用することもできる。フラスコなどの表面において、上記の試薬を含有するゾルをゲル化させた後、真空凍結乾燥させる。その結果、多数の空胞を有する固形物が得られる。この固形物は容易に粉碎でき、ビーズないしパウダーとすることが可能である。

#### 【0053】

ここで、三層構造を有する乾燥試薬ビーズ、すなわちグルコースオキシダーゼを含有する芯部と、この芯部の表面を覆うように形成されるペルオキシダーゼを含有する層と、さらにその層を覆うように形成される4-アミノアンチピリンおよびN-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-トルイジン・ナトリウムを含有する層とからなる乾燥試薬ビーズを採用することもできる。このような乾燥試薬ビーズにおいては、過酸化水素はグルコースオキシダーゼが存在する芯部において生成し、芯部を覆うペルオキシダーゼを含有する層に移行すると瞬時に消費される。このため、過酸化水素は当該ビーズ外へ流出しにくいため、他の試薬ビーズの発色に影響を与えることが少なくなる。したがって正確な検出・測定を実施することが可能となる利点を有する。

## 【0054】

こうした三層構造を有する乾燥試薬ビーズは、グルコースオキシダーゼを上記ゾルに混合したものを原料として流動層造粒法により芯部を作製する。その後、この芯部の表面を、ペルオキシダーゼを上記ゾルに混合したもので、同じく流動層造粒法によりコーティングを施す。次いで、4-アミノアンチピリンおよびN-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-トルイジン・ナトリウムを上記ゾルに混合したもので、さらにコーティングを施し、目的の乾燥試薬ビーズを得ることができる。なお、たとえばホソカワミクロン社製の流動層造粒装置であるアグロマスタ（登録商標）AGM-SDにより上記試薬ビーズを作製することができる。

## 【0055】

また、試料中のHCV抗体を検出することを目的として、たとえば固層免疫定量法やELISA法（Enzyme-Linked immunosorbent Assay）を利用することができる。この場合、たとえばHCVの構造蛋白であるコア蛋白を流路102（図1）の底面に付着させる。具体的には、基板101にポリスチレンを材料として採用した場合、バッファーに当該コア蛋白を分散させたものを流路102に導入することにより、流路102の底面に当該コア蛋白を簡単に付着させることができる。その後、当該コア蛋白を認識するHCV抗体が試料中に含まれるときは、当該抗体が上記コア蛋白と結合し、抗体-抗原複合体を形成する。ついで、バッファーを試料導入口104より導入し、当該バッファーを流路102内に流通させることにより流路102内を洗浄する。そして上記HCV抗体を認識するポリクローナル抗体（二次抗体）を流路102へ導入し、二次抗体を上記抗体-抗原複合体にさらに結合させ、再度流路102内を上記と同様にして洗浄する。このとき、二次抗体に蛍光標識またはアルカリホスファターゼなどの酵素を結合させておくことにより、HCV抗原の高感度な検出が実現する。蛍光標識を二次抗体に結合させた場合は、ブラックライトなどで流路102内を照射することにより、HCV抗体の存在を確認することができる。一方、アルカリホスファターゼを二次抗体に結合させた場合、p-ニトロフェニルフォスフェートなどの発色基質を流路102へ導入すると、アルカリホス



ファターゼによる酵素反応が生じ、発色するため、これによりHCV抗体を検出することができる。

#### 【0056】

上記では、試料中に含まれる抗体の検出について、HCV抗体の例を用いて述べたが、試料中の特定の蛋白、たとえばHCVの構造蛋白であるコア蛋白を検出することを目的として、次のような手法を採用することもできる。HCVの構造蛋白であるコア蛋白のN末端の領域を認識するモノクローナル抗体（一次抗体）を流路102（図1）の底面に結合させておく。試料導入口104から試料を導入し、毛細管効果により流路102へ移動させる。当該試料に上記コア蛋白が含まれているときは、一次抗体とコア蛋白とが抗体-抗原複合体を形成する。次いで、上記と同様にして流路102内を洗浄する。そして上記コア蛋白のN末端以外の領域を認識するモノクローナル抗体（二次抗体）を流路102へ導入し、二次抗体を上記抗体-抗原複合体にさらに結合させ、再度流路102内を上記と同様にして洗浄する。このとき、二次抗体に蛍光標識またはアルカリホスファターゼなどの酵素を結合させておくことにより、上記HCV抗体の場合と同様の手法でHCV抗原についても高感度な検出が可能である。

#### 【0057】

上記の方法は、流路の洗浄工程が不可欠であるが、こうした洗浄の必要がない方法として以下の方法を挙げることができる。この方法では、試料導入口の下流側に、試料中の特定成分と特異的に結合する標識物質を配置した反応部を設け、さらにこの下流側に、特定成分と結合した標識物質を捕捉する捕捉部を設けた構成の分析チップを用いる。ここでは、HCV抗体を検出する場合を例として説明する。

#### 【0058】

図15に示された分析チップ700は、基板701上に試料導入口702、反応室703、検出口704が設けられており、それぞれが図中に示されているように流路705で連結された構成となっている。また、反応室703中には着色したラテックスビーズが充填されており、その表面にはHCVのコア蛋白がコートされている。さらに、反応室703および検出口704の流路705には検出

部 706 が設けられており、この検出部 706 の内壁には、HCV 抗体を認識することが可能な二次抗体が固定されている。

#### 【0059】

なお、この場合、HCV 抗体が上記特定成分に相当し、表面に HCV コア蛋白がコートされたラテックスビーズが、上記特定成分と結合した上記標識物質に相当する。また検出部 706 および後述の検出管 707 (図 17) は、上記特定成分と結合した上記標識物質を捕捉する捕捉部に相当する。

#### 【0060】

次に、分析チップ 700 を使用した HCV 抗体の検出の操作および原理について説明する。まず、試料は試料導入口 702 より注入され、毛細管効果や圧入等により反応室 703 へ送られる。反応室 703 において、反応室 703 中のラテックスビーズと試料とが混和される。当該試料中に HCV 抗体が含まれる場合、反応室 703 中のラテックスビーズ表面にコートされた HCV のコア蛋白に HCV 抗体が結合するため、当該ラテックスビーズ表面に抗体-抗原複合体が形成される。この抗体-抗原複合体を表面に有するラテックスビーズは、やがて反応室 703 から検出口 704 の方向へあふれ出し、検出部 706 へ移動するのであるが、前述したように検出部 706 の内壁には二次抗体が設けられていることから、当該ラテックスビーズは図 16 に示されるように HCV 抗体を介して捕捉されることとなる。このようにして複数のラテックスビーズが検出部 706 (図 15) の内壁に捕捉されると、図 14 (a) のように検出部 706 の部分において流路 705 が詰まることから、反応室 703 から検出部 706 にかけての領域が着色される一方で、検出部 706 から検出口 704 の領域に関しては着色が認められない結果となる。他方、試料中に HCV 抗体が存在しない場合は、検出部 706 におけるラテックスビーズの捕捉が生じない。したがって、ラテックスビーズは検出部 706 を通過することができ、図 14 (b) のように反応室 703 から検出口 704 までの領域すべてが着色することとなる。つまり、検出部 706 から検出口 704 の領域の着色の有無により上記試料中に HCV 抗体が存在したか否かを判定することが可能となる。

#### 【0061】

また、図 1 5 における検出部 7 0 6 の代わりに、図 1 7 (a) のように反応室 7 0 3 と検出口 7 0 4 との間に検出管 7 0 7 を採用することもできる。検出管 7 0 7 は、その内壁に二次抗体が所定の密度勾配でコートされており、反応室 7 0 3 から検出口 7 0 4 へ向かうにしたがって二次抗体の密度が高くなっている。このような構成とすることにより、試料中の H C V 抗体濃度の測定が可能となる。その原理を以下説明する。抗体-抗原複合体を表面に有するラテックスビーズが検出管 7 0 7 の内壁に吸着する際の吸着力は、当該ラテックスビーズに結合した H C V 抗体の密度と、検出管 7 0 7 の内壁の密度とが関係する。たとえば、試料中の H C V 抗体濃度が高い場合、ラテックスビーズには多数の H C V 抗体が結合するため、二次抗体の密度が小さい領域においてラテックスビーズの吸着が生じ、流路の堰き止めが起こる。逆に、試料中の H C V 抗体の濃度が低い場合、ラテックスビーズに結合する H C V 抗体は少数であるため、二次抗体の密度が小さい領域においては、H C V 抗体と二次抗体との結合が生じにくい。そのため、ラテックスビーズは検出管 7 0 7 の高濃度側へ移動し、吸着することとなる。このように、試料中の H C V 抗体濃度により、ラテックスビーズが検出管 7 0 7 の内壁に吸着する箇所が異なる。したがって、たとえば図 1 7 (a) に示されているように反応室 7 0 3 から当該吸着する箇所までに着色が認められることとなるため、着色された領域の長さにより試料中の H C V 濃度を知ることが可能となる。

#### 【 0 0 6 2 】

図 1 7 (a) の検出管 7 0 7 に代えて、図 1 7 (b) のように複数の検出管 7 0 8 を有する構成を採用しても、上記と同様に H C V 抗体の定量が可能である。この場合、たとえば図中の左の検出管 7 0 8 から順次、内壁にコートする二次抗体の密度を高くしておく。こうすることにより、前述した原理により、一定密度以上の二次抗体が内壁にコートされた検出管 7 0 8 内には詰まりが生じることとなる。詰まりが生じた検出管 7 0 8 は、図中、左から 4 ~ 6 本目の検出管 7 0 8 のように着色領域が部分的であったり、全く着色しない。図 1 7 (b) の場合、吸着が生じ始めたのは 4 本目の検出管 7 0 8 であると判断できることから、このことに基づき試料中の H C V 抗体濃度を見積もることができる。

#### 【 0 0 6 3 】

また、ラテックスビーズの詰まり易さは、流路内壁との吸着力のみならず、流路の幅も関係する。そこで、たとえば図18(a)のように次第に幅が狭くなる検出管709を有する構成、もしくは図18(b)のように幅の異なる複数の検出管710を有する構成を採用することによっても試料中のHCV濃度を求めることができる。すなわち、試料のHCV抗体濃度が比較的高い場合、表面にHCV抗体が結合したラテックスビーズが多量となるため、検出管の流路幅が広い場合であっても、流路に詰まりを生じせしめるのに十分な量の吸着が生じる。一方、試料のHCV抗体濃度が低い場合には、表面にHCV抗体が結合したラテックスビーズが少量であるため、流路幅が広い箇所において詰まりが生じにくく、より下流の流路幅が狭い箇所において詰まりが生じることとなる。このことを利用することによってもHCV抗体濃度を見積もることが可能である。

#### 【0064】

上記では、HCV抗体を例に、抗体の検出について述べたが、抗原の検出にも応用することができる。この場合、検出対象の抗原の特定領域を認識するモノクローナル抗体をラテックスビーズ上にコートし、検出部ないし検出管には、当該抗原の別の領域を認識するモノクローナル抗体を固定することにより実現できる。

#### 【0065】

また、CEA、PSAなどの腫瘍マーカーに関しても、上記で説明した固層免疫定量法やELISA法、あるいはラテックスビーズを用いる方法により検出・定量することが可能である。さらには、尿中のhCG（絨毛性性腺刺激ホルモン）に上記の方法を適用することにより、妊娠の成立を判定することができる分析チップを得ることができる。また、異常プリオン（PrP<sup>Sc</sup>）に対する抗体、 $\beta$ アミロイドまたはp97タンパク質に対する抗体に上記の方法を適用することにより、それぞれ狂牛病、アルツハイマー症の迅速な診断に資する分析チップが実現する。

#### 【0066】

本実施形態の分析チップ100の基板101（図1）の材料としては、PMM A（ポリメタクリル酸メチル）、PET（ポリエチレンテレフタレート）、PC

(ポリカーボネート) のようなプラスチック材料、ガラス、シリコン基板が例示される。基板 101 のサイズは特に限定されないが、たとえば、縦・横とも 2 ～ 3 cm とすることができる。厚さについても特に限定されないが、たとえば 0.2 ～ 0.7 cm とすることができる。また流路 102 は、たとえばエッチングにより設けたり、射出成形により成形するなど基板 101 の材料に適した公知の方法により設けることができる。また、流路 102 を備える基板 101 を次のようにして作製することもできる。マイクロメートルオーダーの流路を形成できるような金型を精密加工機（たとえば FANUC ROBONANOUI（ファナック社製））により作製し、この金型と高精度射出成形機（たとえば FANUC ROBOSHOT  $\alpha$ -50iAP（ファナック社製））とによりプラスチック射出成形を行う。これにより、精度よく基板 101 を量産することが可能となる。また、流路 102 の内壁は、試料が通過しやすいようにするために親水性処理を施してもよい。親水性処理としては、リン脂質に類似した構造を有する物質、たとえば 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリンを構成単位とする水溶性ポリマー（リピジュア（登録商標、日本油脂社製））を用いて行うことができる。この場合、リピジュア（登録商標）を例えば 0.5 wt % となるように TBE バッファ（89 mM Tris、89 mM ホウ酸、2 mM EDTA）等の緩衝液に溶解させ、この溶液で流路 102 内を満たし、数分間放置した後、液体をエアガン等で除去、乾燥させることによって流路 102 の内壁を親水性処理することができる。また、流路 102 のサイズについては特に限定されないが、たとえば、幅 50 ～ 200  $\mu$ m、深さ 50 ～ 500  $\mu$ m とすることができる。

#### 【0067】

被覆 106 およびマイクロレンズ 103 はそれぞれを別個に作製し、その後両者を接着あるいは融着、超音波により圧着することもできるが、両者を一体成形することが好ましい。一体成形することにより、被覆 106 およびマイクロレンズ 103 を接合する工程を省略することができる。また、接着剤あるいは融着、超音波による圧着による接合の場合、被覆 106 やマイクロレンズ 103 の屈折率が接合面において変化する可能性があることから、流路 102 内の視認性が低下することも考えられるが、一体成形によればそのような懸念が少ない。

## 【0068】

被覆106およびマイクロレンズ103の材料としては、たとえばPMMA、PET、PCのようなプラスチック材料やガラス等、流路102を観察できるようにするために透明な材料が選択される。マイクロレンズ103のサイズとしては図1(b)において、たとえばHを0.25mm~1.0mm、Wを0.50~2.0mmとすることができる。

## 【0069】

被覆106と基板101との接合は、それらに適切な接着剤により行うことができる。また、融着、超音波による圧着や嵌め込みにより接合してもよい。接着剤を用いる場合、接着剤が流路102に浸入することを防ぐため、接着剤は流路102から離れた箇所、たとえば基板101の周縁部に塗布することが望ましい。この場合、流路102と被覆106との間に極めて僅かな隙間が生じるが、被覆106の材料として例えばシリコンゴム膜などの疎水性物質を採用するか、または被覆106の下面を例えばシリコンコーティング剤などにより疎水性加工することで流路102からの水の漏れ出しを完全に防ぐことができる。

## 【0070】

被覆106および基板101の接合を強固なものとするという観点からは、両者の材料を同じものとするのが好ましい。また、分析チップ100の軽量化という観点からは、被覆106および基板101の材料としてプラスチック材料を選択することが好ましい。プラスチック材料の中でもPMMAを選択することがより好ましい。PMMAは、優れた透明度および強度を兼ね備えているからである。

## 【0071】

図3における試薬層107は、たとえば試薬およびバインダを溶剤に溶解ないし均一に懸濁させ、その溶液ないし懸濁液を流路102に流し込み、乾燥窒素ガスや乾燥アルゴンガス雰囲気下で乾燥させることにより設けることができる。また、上記の乾燥試薬ビーズを用いる場合、たとえば次のようにして試薬層107を設けることができる。被覆106を接合していない状態で、乾燥試薬ビーズ、バインダおよび水の混合体を流路102に流し込む。このとき、流路102に第

一堰き止め部材を設けておき、当該混合体が試薬層 1 0 7 を設けるべき領域以外の領域に流れ出さないようにしておく。この状態で、当該混合体を乾燥、固化させることにより試薬層 1 0 7 を設けることが可能である。上記バインダとしては、たとえばアガロースゲルやポリアクリルアミドゲルなどの吸水性ポリマーを含むゾルが例示される。これらの吸水性ポリマーを含むゾルを用いれば、自然にゲル化することから乾燥させる必要がない。なお、試薬層 1 0 7 は図 3 (b) に示されるように流路を塞ぐように設けてもよいし、流路底面上に薄く層状に設けてもよい。

### 【 0 0 7 2 】

上記では、バインダを用いて試薬層 1 0 7 を設ける方法を述べたが、バインダを用いず、上記乾燥試薬ビーズを水のみで懸濁させたものを用い、乾燥試薬ビーズを流路に充填することも可能である。たとえば図 1 0 (a) に示されるように、流路 1 0 2 内に第一堰き止め部材 1 1 2 を設けておき、水に懸濁させた乾燥試薬ビーズを毛細管効果を利用して流路 1 0 2 へ流し込む。こうすることにより、水は第一堰き止め部材 1 1 2 を通過する一方、乾燥試薬ビーズ 1 1 3 は第一堰き止め部材 1 1 2 により堰き止められるため、図 1 0 (b) に示されるように流路 1 0 2 に充填されることとなる。こうして乾燥試薬ビーズ 1 1 3 を充填したのち、第二堰き止め部材 1 1 4 により充填した乾燥試薬ビーズ 1 1 3 の逆流を防ぎつつ、乾燥窒素ガスや乾燥アルゴンガス雰囲気下で乾燥させることにより試薬層 1 0 7 (図 3) とすることができる。なお、第二堰き止め部材 1 1 4 としては、たとえばバッファーにより膨潤し、かつ粘着性のあるようなゲル (たとえばポリメチルセルロース) の乾燥ビーズが挙げられる。この乾燥ビーズにより第二堰き止め部材 1 1 4 を形成するにあたっては、上記のようにして乾燥試薬ビーズ 1 1 3 を充填したのち、バッファーに分散させた当該乾燥ビーズを充填する。充填された当該乾燥ビーズは、互いに吸着したり、流路 1 0 2 の内壁に吸着することにより乾燥試薬ビーズ 1 1 3 を支持することとなる。なお、より効果的に当該乾燥ビーズを流路 1 0 2 に充填させるためには、十分に圧縮し乾燥させたビーズを用いることが好ましい。こうすることにより、当該乾燥ビーズが膨潤するのに要する時間が長くなるため、確実に第二堰き止め部材を形成することができる。

## 【0073】

図3においては試薬層107が被覆106に達するまで満たされた状態としたが、必ずしもこのようにする必要はなく、たとえば試薬層107を流路102の底面に薄く設けてもよい。

## 【0074】

(第二の実施の形態)

図2(a)は、本実施形態にかかる分析チップ200の上面図ある。また、図2(b)および図2(c)は、それぞれ図2(a)中のA-A'断面図およびB-B'断面図を表している。

## 【0075】

分析チップ200は、反応槽202および流路203が設けられた基板201上に、透明な被覆206が設けられ、被覆206の上にはさらにマイクロレンズ207が設けられている。また、反応槽202の底面には試薬層210が設けられている。そして、被覆206には、マイクロレンズ207と、分析試料を流路203を通じて反応槽202へ導入するための試料導入口204と、分析試料を導入したときに流路203内などの空気を排気できるようにするための排気口205が設けられている。

## 【0076】

次に、分析チップ200の使用方法について説明する。分析対象の試料は、試料導入口204から注入され、毛細管効果、ポンプによる圧入、あるいは電気浸透流などにより流路203を通じて反応槽202へと導入される。特定成分が当該試料中に含まれる場合、反応槽202には特定成分と相互作用することにより発色ないし発光する試薬を含有する試薬層210が設けられているため、特定成分の存在が検出され、発色ないし発光を視認することによりその存在を知ることができる。また、後述するように、当該試料に含まれる特定成分の濃度を求めることが可能となる。

## 【0077】

この分析チップ200には、マイクロレンズ207が設けられているため、反応槽202中で生じる発色、発光、変色、脱色または消光をより詳細に視認する



ことができるようになっている。そのため、反応槽 202 が微量な場合でも当該発光または発色を視認することができる。したがって、反応槽 202 の容積が小さくても足りるため、分析チップ 200 による分析においては、分析に供する試料を少量化することができる。

#### 【0078】

本実施形態の分析チップは、種々の物質の検出・定量などに応用できるが、グルコース、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルブミン、アルカリ性フォスファターゼ、アミラーゼ、カルシウムイオン、総コレステロール、過酸化脂質、クレアチニン、カリウムイオン、ビリルビン、総蛋白などの血液生化学検査；Hb s 抗原・抗体、HCV 抗体、HIV 抗体などの免疫血清学的検査；CEA、CA19-9、PSA、CA-125 などの腫瘍マーカーの分析への応用が例示される。

#### 【0079】

たとえば過酸化脂質の検出の場合、試薬層 210 にチトクロム C およびルミノールを含有させておくことにより実施することができる。この場合の原理は以下のとおりである。試料中に含まれる過酸化脂質がチトクロム C と反応し、活性酸素が生成する。この活性酸素によりルミノールが酸化される際に発光する。したがって、この際の発光により過酸化脂質の検出を行うことができる。また、グルコースの場合は、第一の実施の形態において説明したように、キノン系色素の生成反応を利用したグルコースの検出が可能である。さらに、HCV 抗原、CEA、PSA、hCG、異常プリオンに対する抗体、 $\beta$ アミロイドまたは p97 タンパク質に対する抗体などの場合についても、第一の実施の形態において説明した固層免疫定量法や ELISA 法、またはラテックスビーズを利用した方法に基づき検出することが可能である。

#### 【0080】

発色反応を利用して定量を行う場合、たとえば試料中に所定量 a、b、c の特定物質が存在するときに呈する色彩と同じ色彩を有する色彩見本 A、B、C を反応槽 202 の近傍に配置しておき、反応槽 202 における発色反応の色彩と色彩見本 A、B、C とを比色することにより、当該特定物質の定量を簡便かつ迅速に

実施することが可能となる。当該色彩見本は、実際の反応液である必要はなく、たとえば透明塗料等の同じ色彩を有する液体、エナメルペンキなど透明な状態で固化するもの、着色したアクリル板などを使用することができる。

#### 【0081】

以上より、本実施形態の分析チップ200によれば、他の分析用機器を用いず、本分析チップのみで特定成分の定量分析を迅速に実施することが可能となる。

#### 【0082】

本実施形態の分析チップ200の基板201（図2）の材料としては、たとえばガラス、シリコン基板、あるいはPMMA、PET、PCなどのプラスチック材料が例示される。なお、特定成分の検出に発色反応を利用する場合、後述する補助照明（図5～9）を効果的に使用する観点から、ガラス、PMMA、PET、PCなどの透明なものを選択することが好ましい。

#### 【0083】

基板201のサイズは特に限定されないが、たとえば、縦・横とも2～3cmとすることができる。厚さについても特に限定されないが、たとえば0.2～0.7cmとすることができる。また反応槽202および流路203は、たとえばエッチングにより設けたり、型にプラスチック樹脂を流し込むことにより成形するなど基板201の材料に適した公知の方法により設けることができる。反応槽202および流路203の内壁は、試料が通過しやすいようにするために親水性処理を施してもよい。親水性処理としては、たとえば、リピジュア（登録商標、日本油脂社製）を用いて行うことができる。この場合、リピジュア（登録商標）を0.5wt%となるようにTBEバッファ等の緩衝液に溶解させ、この溶液で反応槽202および流路203内を満たし、数分間放置した後、液体をエアガン等で除去、乾燥させることによって反応槽202および流路203の内壁を親水性処理することができる。反応槽202のサイズについては特に限定されないが、たとえば、a、bともに100～300 $\mu$ m、Dを100～400 $\mu$ mとすることができる。また、流路203のサイズについても特に限定されないが、たとえばcを50～200 $\mu$ m、dを50～100 $\mu$ mとすることができる。被覆206およびマイクロレンズ207の材料としては、ガラスあるいはPETなどの

プラスチック材料等、反応槽 202 内を観察できるようにするために透明な材料が選択される。マイクロレンズ 207 のサイズとしては、たとえば H を 0.25 mm ~ 1.0 mm、R を 0.25 ~ 1.0 mm とすることができる。

#### 【0084】

また、試薬層 210 はたとえば次のようにして作製することができる。バインダとしての CMC（カルボキシメチルセルローズ）を適量の水に溶かし、この溶液に対して所定量の試薬を混合する。こうして得られた混合物を反応槽 202 に流し込み、乾燥アルゴンまたは乾燥窒素雰囲気下において乾燥させ、試薬層 210 を設けることができる。

#### 【0085】

また、次のようにして試薬層 210 を設けることも可能である。バインダとしてアガロースやポリアクリルアミド、メチルセルローズなどの吸水性ポリマーを含むゾルを調製し、このゾルと、所定量の試薬とを混合する。こうして得られたゾルを反応槽 202 に流し込み、自然硬化させることにより試薬層 210 とする。ここで、自然硬化させたのち、さらに乾燥空気等で乾燥させてもよい。このようにすることにより、試薬層 210 を長寿命化することが可能となる。

#### 【0086】

##### （第三の実施の形態）

暗い室内など十分な光量を確保できない環境において、第一または第二の実施形態で示した分析チップにより分析を行う場合、流路または反応槽が微少であるため、マイクロレンズによる拡大だけでは十分に発色が視認できない場合も考えられる。そこで、本実施形態では、十分な光量が確保できない環境下でも、視認性を向上させることが可能となる形態について説明する。

#### 【0087】

本実施形態の原理について、図 5 を参照して説明する。図 5 に示された分析チップ 300 は、第一の実施の形態で示した分析チップと同様の構成を有するものであるが、基板 301 の材料として透明なものを用いる。そして、図 5 に示されるように、基板 301 の側方から光 310 を照射する。照射された光 310 の一部が流路 302 中に存在する色素に当たり、乱反射が生じ散乱光 320 となる。

その散乱光 3 2 0 はマイクロレンズ 3 0 3 を通して観測される。この散乱光 3 2 0 により、流路 3 0 2 内の視認性が向上する。

#### 【0 0 8 8】

なお、流路 3 0 2 中の様子を拡大しなくとも視認可能である場合、マイクロレンズを備えない図 1 3 のような構成を採用することも可能である。この図の分析チップについても上記の分析チップ 3 0 0 の場合と同様に、光 3 1 0 による散乱光 3 2 0 が流路 3 0 2 内の視認性向上に寄与する。

#### 【0 0 8 9】

ここで、図 5 (a) において、紙面上面から光を照射した場合を考える。この場合、照射された光は流路内の色素のみならず、マイクロレンズ 3 0 3 や被覆 3 0 6 も光を反射するため、流路内の像のコントラストは低くなってしまう。これに対し、本実施形態の分析チップ 3 0 0 の場合、マイクロレンズ 3 0 3 や被覆 3 0 6 からの反射光は観測されず、散乱光 3 2 0 のみを観測することになることから、流路 3 0 2 内の像のコントラストは高いものとなる。したがって分析チップ 3 0 0 においては優れた視認性を得ることができる。

#### 【0 0 9 0】

ここで、第二の実施の形態で述べたような色彩見本を利用する定量を行う場合、基板 3 0 1 上の流路 3 0 2 に沿った領域に微小な凹部を設け、その凹部に色彩見本を配置しておくことができる。このようにすることにより、流路 3 0 2 内における発色反応の色彩および色彩見本の両方を散乱光 3 2 0 による照明の下で比色することができる。したがって濃度を正確に判定することが可能となる。

#### 【0 0 9 1】

光 3 1 0 の供給方法は特に限定されないが、たとえば図 6 に示されるような集光レンズ 3 3 0 を分析チップ 3 0 0 の側方に配置することにより光 3 1 0 を供給することができる。

#### 【0 0 9 2】

また、図 7 (a) のように、光源 3 4 0 およびソケット 3 5 0 を有する側方照明ユニット 3 7 0 に分析チップ 3 0 0 をセットし、光源 3 4 0 から光を供給することも可能である。図 7 (b) は、分析チップ 3 0 0 を側方照明ユニット 3 7 0

にセットした状態の断面図であり、光源 3 4 0 から光 3 1 0 が分析チップ 3 0 0 に供給されている様子が示されている。光源 3 4 0 の発する光量を予め最適な条件に設定しておくことにより、常に安定して分析・測定を行うことが可能となる。なお、光源 3 4 0 としては、たとえば通常の電灯（蛍光灯や電球など）、LED など種々の光源を使用することができる。また、蛍光を利用して特定物質を検出する場合においては、光源 3 4 0 として近紫外線を照射できるブラックライト等を用いることができる。さらにこの場合、基板 3 0 1 としては、近紫外線を透過させるため、UV 透過性プラスチックや UV 用石英などを用いることが好ましい。なお、集光レンズ 3 3 0 および側方照明ユニット 3 7 0 は上記第二の照明部材に相当する。

#### 【0 0 9 3】

##### （第四の実施の形態）

本実施形態においては、第三の実施の形態とは異なる手法により、流路の視認性を向上させる形態を示す。

#### 【0 0 9 4】

図 8 は、本実施形態にかかる分析チップ 4 0 0 を表した図であり、図 8（a）は分析チップ 4 0 0 の上面図である。また、図 8（b）および図 8（c）は、それぞれ図 8（a）中の A-A' 断面図および B-B' 断面図を表している。

#### 【0 0 9 5】

分析チップ 4 0 0 には、上記第一の照明部材に相当する光導波路 4 3 0 が基板 4 0 1 に包まれるように設けられており、流路 4 0 2 の底面は光導波路 4 3 0 の表面により構成されている。また、第一の実施の形態において示した分析チップと同様に、基板 4 0 1 は透明な被覆 4 0 6 を備え、その上にさらにマイクロレンズ 4 0 3 を備える。

#### 【0 0 9 6】

図 8 に示すように、分析チップ 4 0 0 に対して光導波路 4 3 0 の先端部から光 4 1 0 を入射すると、その光は光導波路 4 3 0 を通過するが、一部の光は屈折光 4 2 0 として光導波路 4 3 0 から出射し、流路 4 0 2、被覆 4 0 6 およびマイクロレンズ 4 0 3 を通過する。そのため、流路 4 0 2 内の像が明瞭なものとなる。

また、屈折光 420 は流路 402 付近のみを照らす間接光であるため、分析チップ 400 の背面からバックライトにより光を照射するような場合と比較してコントラストの高い像が得られる。

#### 【0097】

光導波路 430 の材料の絶対屈折率は、基板 401 の材料の絶対屈折率よりも大きくすることが好ましい。こうすることにより光 410 を効率良く導くことが可能となり、より多くの屈折光 420 が得られるからである。このような効果を得るために、たとえば基板 401 の材料を PMMA（絶対屈折率 1.49）とし、光導波路 430 の材料を PET（絶対屈折率 1.79）あるいは PC（絶対屈折率 1.73）とすることができる。

#### 【0098】

基板 401 内に光導波路 430 を設ける方法としては、たとえば基板 401 を切削することにより中空を設け、その中空に光導波路 430 の材料である溶融した樹脂を流し込み、その後冷却して光導波路 430 とする方法が挙げられる。こうして基板 401 内に光導波路 430 を設けたのち、流路 402 が基板 401 に設けられる。なお、被覆 406 およびマイクロレンズ 403 については、第一の実施の形態と同様の構成とすることができる。

#### 【0099】

光 410 を供給する光源は、特に限定されないが、第三の実施の形態同様、たとえば通常の電灯（蛍光灯や電球など）、LED、バックライトなど種々の光源を使用することができる。

#### 【0100】

また、光導波路を有する形態の変形例として、図 9 に示されるような分析チップ 500 を挙げることもできる。図 9（a）は分析チップ 500 の上面図である。また、図 9（b）および図 9（c）は、それぞれ図 9（a）中の A-A' 断面図および B-B' 断面図を表している。分析チップ 500 は、その底面に保護層 540 を有している点で分析チップ 400 と異なっている。その他の構成は、基本的には図 8 に示される分析チップ 400 と同様の構成を採用しており、光 510 を光導波路 530 へ照射し、屈折光 520 を生じさせることにより、マイクロ

レンズ503を通して流路502内の像を視認性良く観察することが可能となっている。

#### 【0101】

分析チップ500の場合、光導波路530は次のようにして設けることができる。流路502を有する基板501の底面に、光導波路530を備え付けるための溝を切削により設ける。次に、当該溝に光導波路530の材料である熔融した樹脂を流し込み、その後冷却、固化させて光導波路530とする。その後、融着、超音波による圧着あるいは接着剤による接着等により基板501と保護層540とを接合する。上記溝は、切削により設ける方法の他、第一の実施の形態で示した方法を応用することによっても実現することができる。すなわち精密加工機により、上記溝および流路502を備えた基板を形成できるような金型を予め作製し、この金型と高精度射出成形機とによるプラスチック射出成形により、流路502および上記溝を備える基板501を得ることができる。また、光導波路530の材料として、紫外線硬化樹脂（たとえばJ-91（サマーズオプティカル社製））を用いることもできる。この場合、紫外線硬化樹脂をモノマー状態で上記溝に塗布することにより充填し、紫外線を照射することにより重合硬化させる。このようにすることにより簡便に光導波路530を設けることが可能である。

#### 【0102】

保護層540の材料としては、たとえばPMMA、PET、PCのようなプラスチック材料やガラス等が例示される。なお、被覆506およびマイクロレンズ503については、第一の実施の形態と同様の構成とすることができる。

#### 【0103】

以上、本発明の実施の形態にかかる分析チップについて説明したが、これらの分析チップは単独で用いることができるほか、他のマイクロチップと組み合わせて使用することも可能である。たとえば、分離機能を備えたマイクロチップと本発明の分析チップとをシームレスに接続することにより、試料の分離・精製、検出・測定をチップのみで迅速に実施することが可能となる。また、たとえば上記いずれかの実施の形態において示した分析チップ上に分離機能を追加することによって、試料の分離・精製、検出・測定を一つのチップのみで迅速に実施するこ

とが可能となる。こうした分析チップの一例を図11に示す。分析チップ600は、流路161aおよび161bを有し、これら2本の流路の間に隔壁125が介在している。隔壁125の所定箇所には分離領域124が設けられており、この分離領域124により分離された特定物質を検出するための試薬層122a、122bが、それぞれ流路161a、161bの所定箇所に設けられている。また、試薬層122a、122bを拡大して視認できるようにそれぞれマイクロレンズ123a、123bが設けられている。

#### 【0104】

次に、分析チップ600の使用方法について図11および図12を参照して説明する。図12は図11における分離領域124付近を拡大して示した図である。試料は試料導入部120から注入され、毛細管効果、空気圧による圧入、電気浸透流などにより流路161b内を液溜め126へ向かって流動する。一方、緩衝液は緩衝液導入部121より注入され、毛細管効果、空気圧による圧入、電気浸透流などにより流路161aを液溜め127へ向かって流動する。したがって、図12に示されるように、流路161aおよび161bの流れの方向は互いに対向することとなる。

#### 【0105】

ここで、分離領域124における分離の原理について図12を参照して説明する。小粒子151と大粒子152とを含有する試料150が流路161bを図中下向きに通過する際、試料150に含まれる小粒子151が図の中央に示される隔壁に設けられた分離流路を通過し、隣接する流路161aへ移行する。流路161aに移行した小粒子151は、流路161aを図中上向きに流れる緩衝液とともに同方向へ運搬される。一方、上記分離流路を通過することができない大粒子152はそのまま流路161bに留まり、図中下方向へ流れていくこととなる。こうして小粒子151と大粒子152とが分離領域124において分離される。分離された小粒子151および大粒子152は、それぞれ試薬層122a、122bにおいて検出され、それらの変化はマイクロレンズ123a、123bにより拡大して視認することができる。

#### 【0106】



なお、分析チップ600の被覆の材料としては、疎水性のものを採用することが好ましい。こうすることにより流路161aおよび161bの内壁の親水性度が低下するため、以下の点で操作上好都合となる。分析チップ600による分離を実現するためには、緩衝液および試料を、所定の流路以外にあふれ出すことなく流通させることが必要である。したがって、緩衝液および試料を分離領域124に同時に到達させることが理想であるが、通常困難である。この点、流路内壁の親水性度を適度に低下させると緩衝液あるいは試料の流路内の進行が緩徐となる。そのため、たとえば緩衝液を流路161aに先に導入しても、当該緩衝液は流路161bにあふれ出すことはない。この状態で試料を161bに導入することにより、流路161a、161b中にそれぞれ緩衝液、試料が流通した状態を保ちつつ、図12の中央に示される隔壁に設けられた分離流路において分離が実現する。

#### 【0107】

図11の分析チップ600は、たとえば血液の分析に応用することができる。この場合、比較的大きい血球成分が大粒子152に相当し、血球以外の成分が小粒子151に相当することになる。そして、血中の特定物質を検出できる試薬を試薬層122a中に含有させておくことにより、遠心分離操作等の前処理をすることなく、血液から直接当該特定物質を分析することが可能となる。なお、この場合、試料としての血液は試料導入部120（図11）から導入することとなる。

#### 【0108】

なお、図11においては流路を二本備えた分析チップを示したが、三本以上とすることにより三種類以上の大きさの分子に分離できるようにすることも可能である。また、試薬層に関しては、図11の分析チップのように流路それぞれに試薬層を設けてもよいし、いずれかの流路にのみ設ける形態を採ってもよい。

#### 【0109】

##### 【発明の効果】

以上説明したように本発明の分析チップは、試料を検出する検出部とその検出部を覆うように形成されたマイクロレンズとを備えているため、他に検出・分析

のための特別な外部機器を必要とせず、なおかつ検体を適用後、その場で迅速に目視により分析結果を得ることが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明の分析チップを表す図である。

【図 2】

本発明の分析チップを表す図である。

【図 3】

本発明の分析チップを表す図である。

【図 4】

本発明の分析チップの試薬層付近を拡大した図である。

【図 5】

本発明の分析チップに光を照射した場合について説明するための図である。

【図 6】

本発明の分析チップの側方に集光レンズを配置した場合について説明するための図である。

【図 7】

本発明の分析チップの側方に光源を配置した場合について説明するための図である。

【図 8】

本発明の分析チップを表す図である。

【図 9】

本発明の分析チップを表す図である。

【図 1 0】

乾燥試薬ビーズを流路に充填する方法について説明するための図である。

【図 1 1】

本発明の分析チップを表す図である。

【図 1 2】

図 1 1 の分離領域を説明するための図である。

**【図 13】**

本発明の分析チップを表す図である。

**【図 14】**

本発明の分析チップを用いた検出法について説明するための図である。

**【図 15】**

本発明の分析チップを表す図である。

**【図 16】**

ラテックスビーズが検出部内壁に捕捉される原理について説明するための図である。

**【図 17】**

本発明の分析チップを用いた定量法について説明するための図である。

**【図 18】**

本発明の分析チップを用いた定量法について説明するための図である。

**【符号の説明】**

- 100 分析チップ
- 101 基板
- 102 流路
- 103 マイクロレンズ
- 104 試料導入口
- 105 排気口
- 106 被覆
- 107 試薬層
- 108 試料
- 109 発色領域
- 110 試料界面
- 111 スケール
- 112 第一堰き止め部材
- 113 乾燥試薬ビーズ
- 114 第二堰き止め部材

- 120 試料導入部
- 121 緩衝液導入部
- 122 a、122 b 試薬層
- 123 a、123 b マイクロレンズ
- 124 分離領域
- 125 隔壁
- 126 液溜め
- 127 液溜め
- 150 試料
- 151 小粒子
- 152 大粒子
- 161 a、161 b 流路
- 200 分析チップ
- 201 基板
- 202 反応槽
- 203 流路
- 204 試料導入口
- 205 排気口
- 206 被覆
- 207 マイクロレンズ
- 210 試薬層
- 300 分析チップ
- 301 基板
- 302 流路
- 303 マイクロレンズ
- 306 被覆
- 310 光
- 320 散乱光
- 330 集光レンズ

340 光源  
350 ソケット  
370 側方照明ユニット  
400 分析チップ  
401 基板  
402 流路  
403 マイクロレンズ  
406 被覆  
410 光  
420 屈折光  
430 光導波路  
500 分析チップ  
501 基板  
502 流路  
503 マイクロレンズ  
506 被覆  
510 光  
520 屈折光  
530 光導波路  
540 保護層  
600 分析チップ  
700 分析チップ  
701 基板  
702 試料導入口  
703 反応室  
704 検出口  
705 流路  
706 検出部  
707 検出管

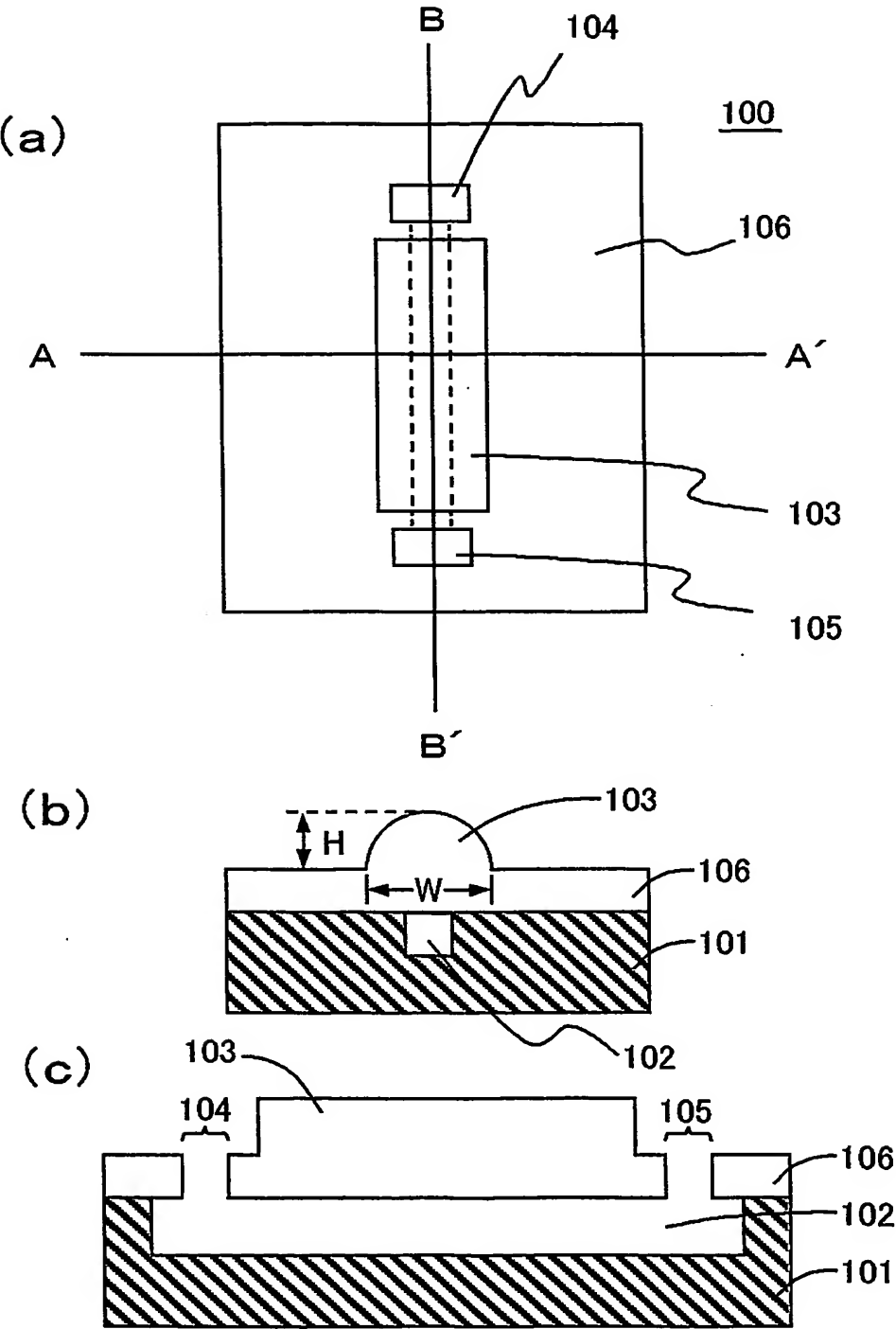
708 検出管

709 検出管

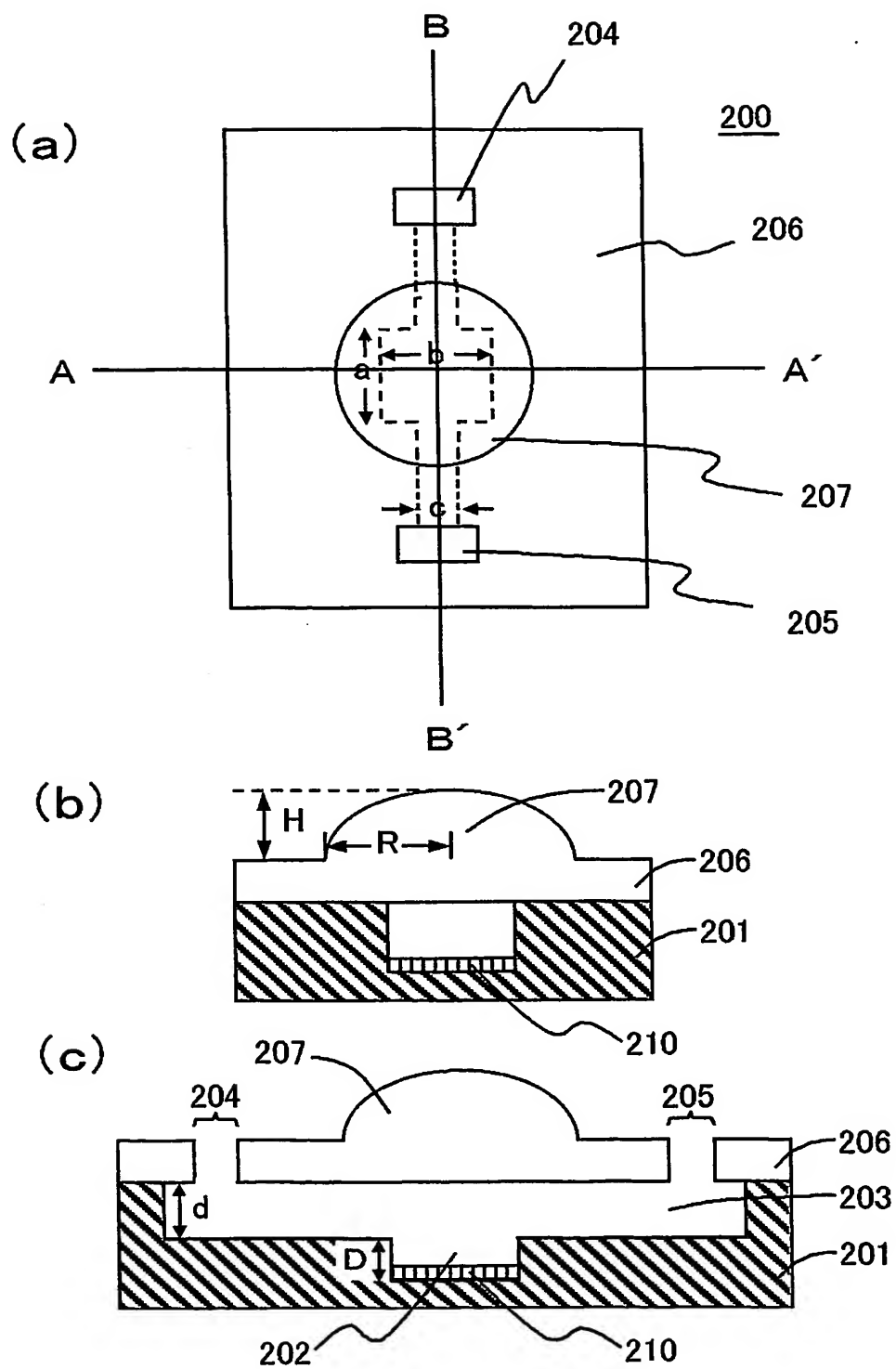
710 検出管

【書類名】 図面

【図 1】

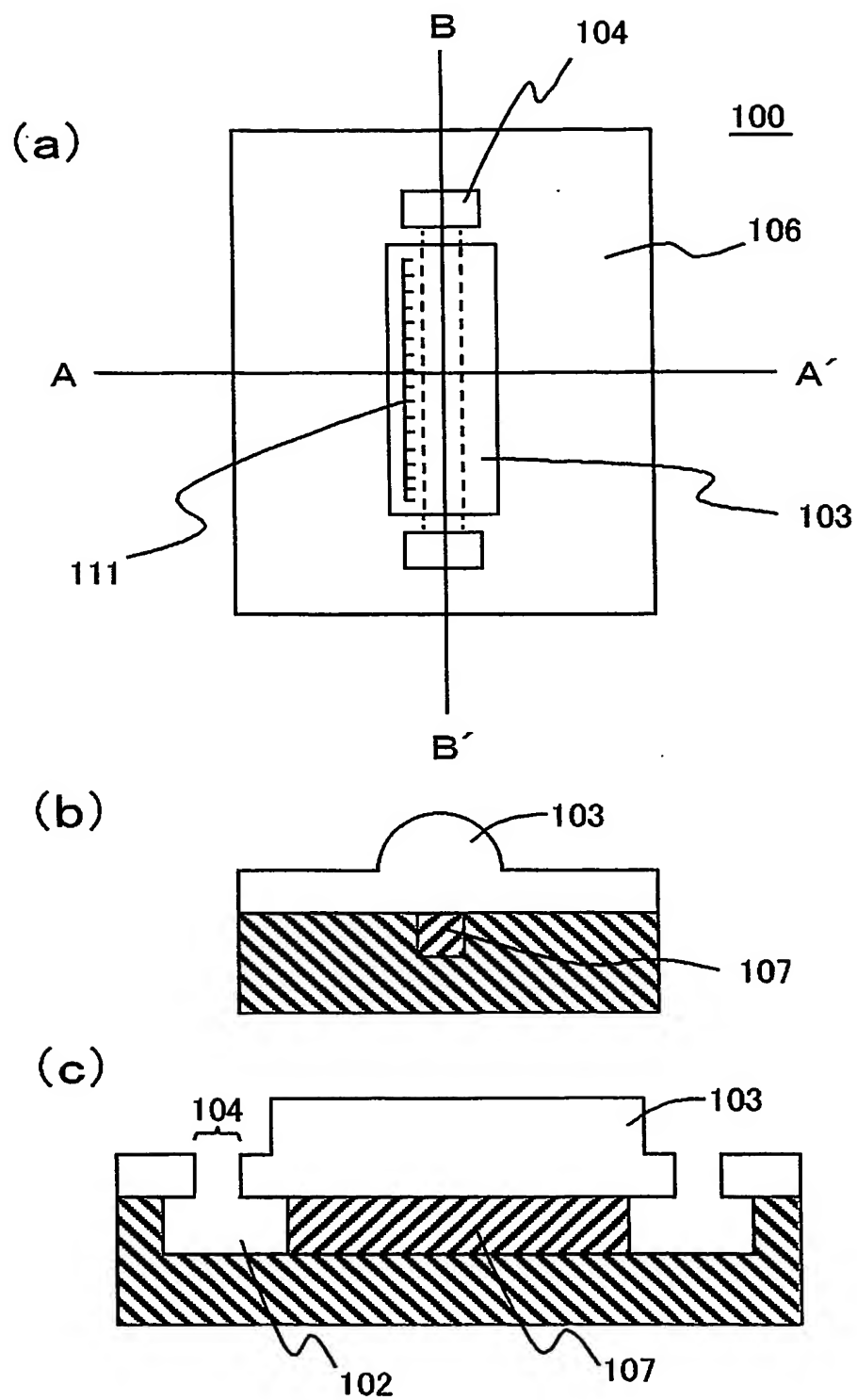


【図 2】

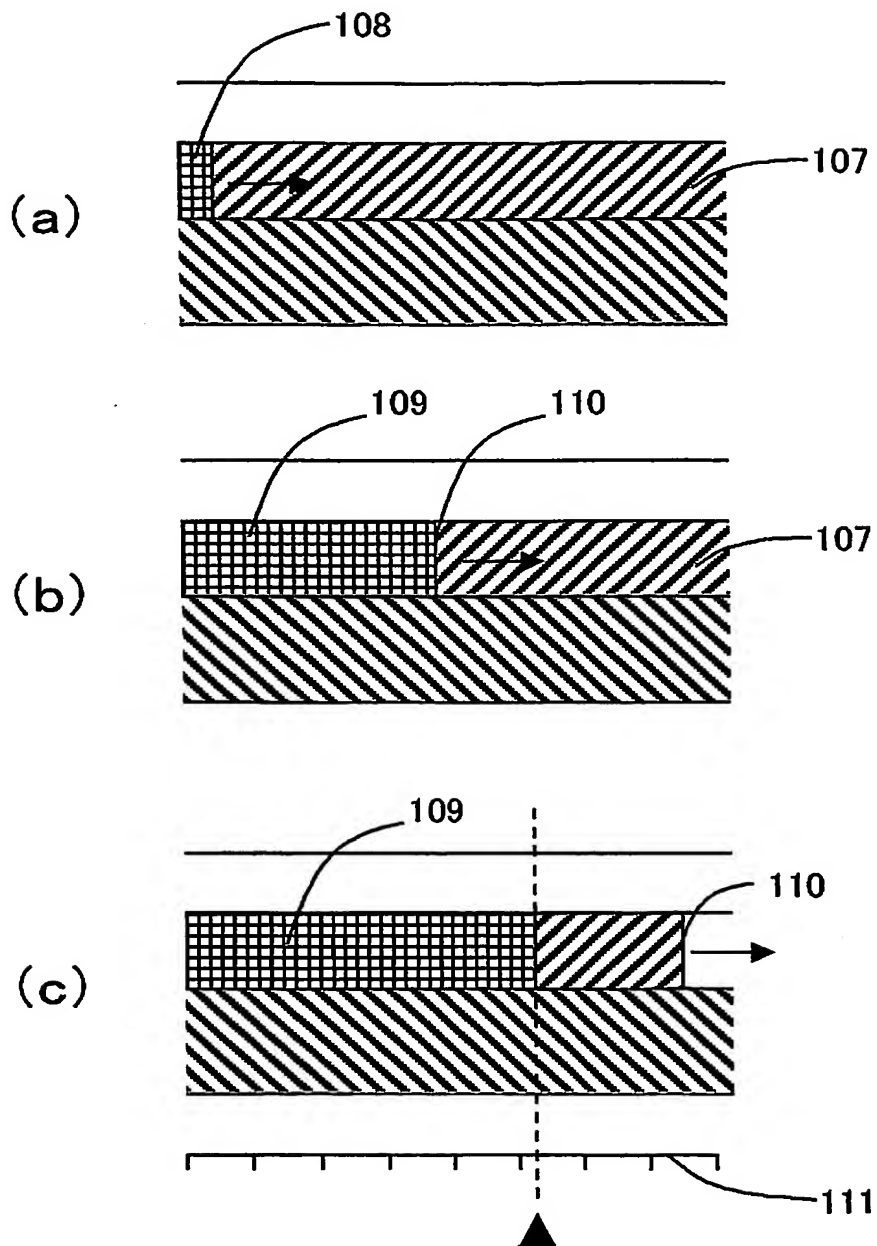




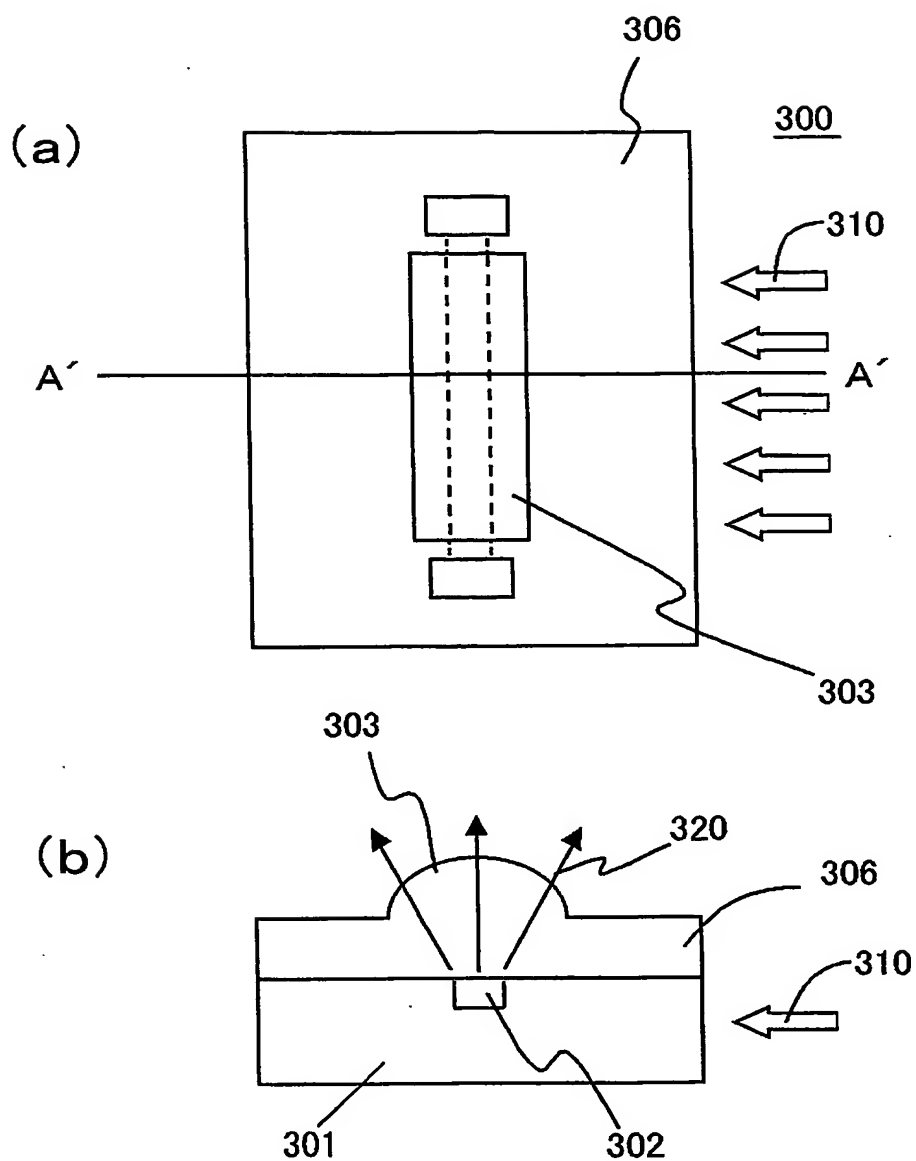
【図3】



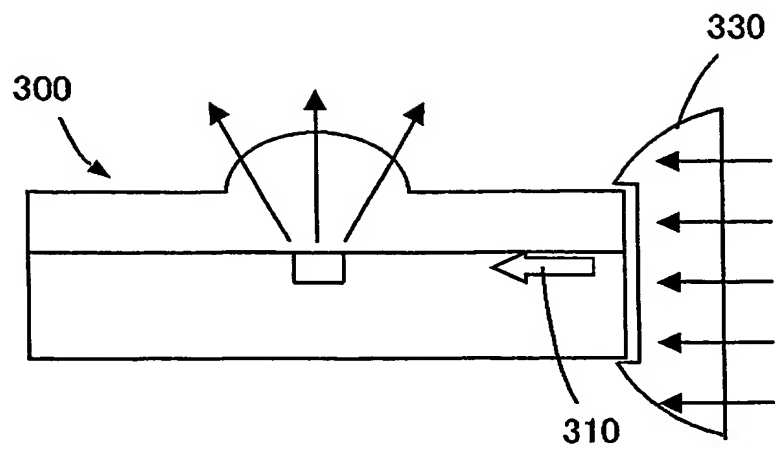
【図 4】



【図 5】

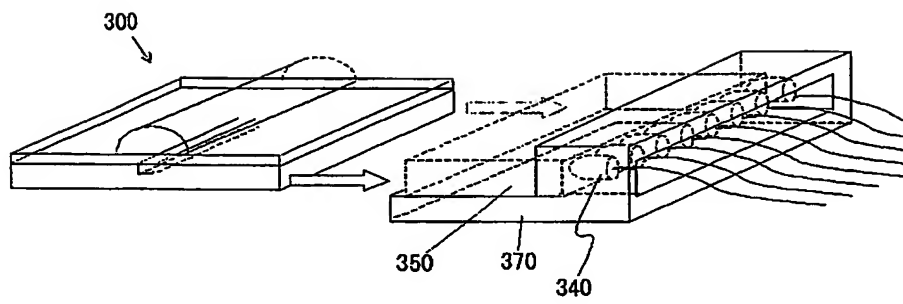


【図 6】

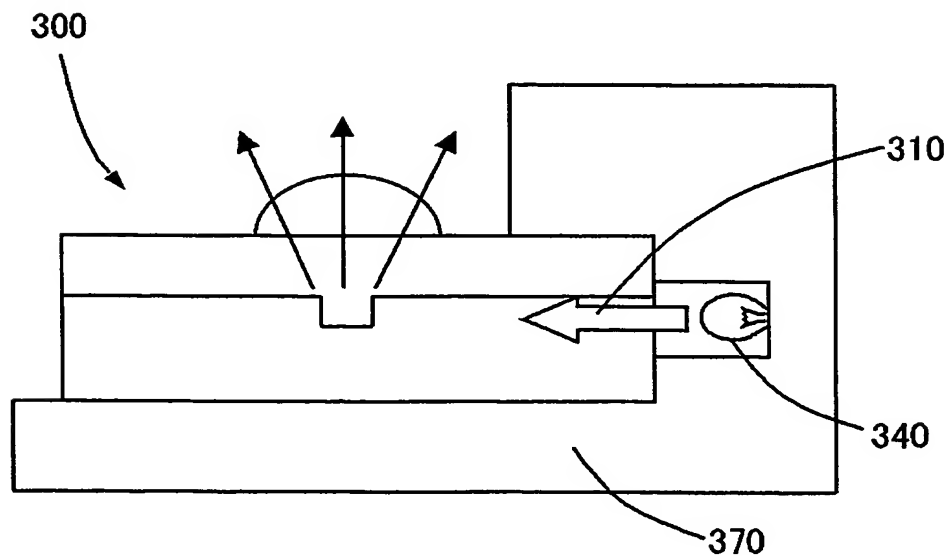


【図 7】

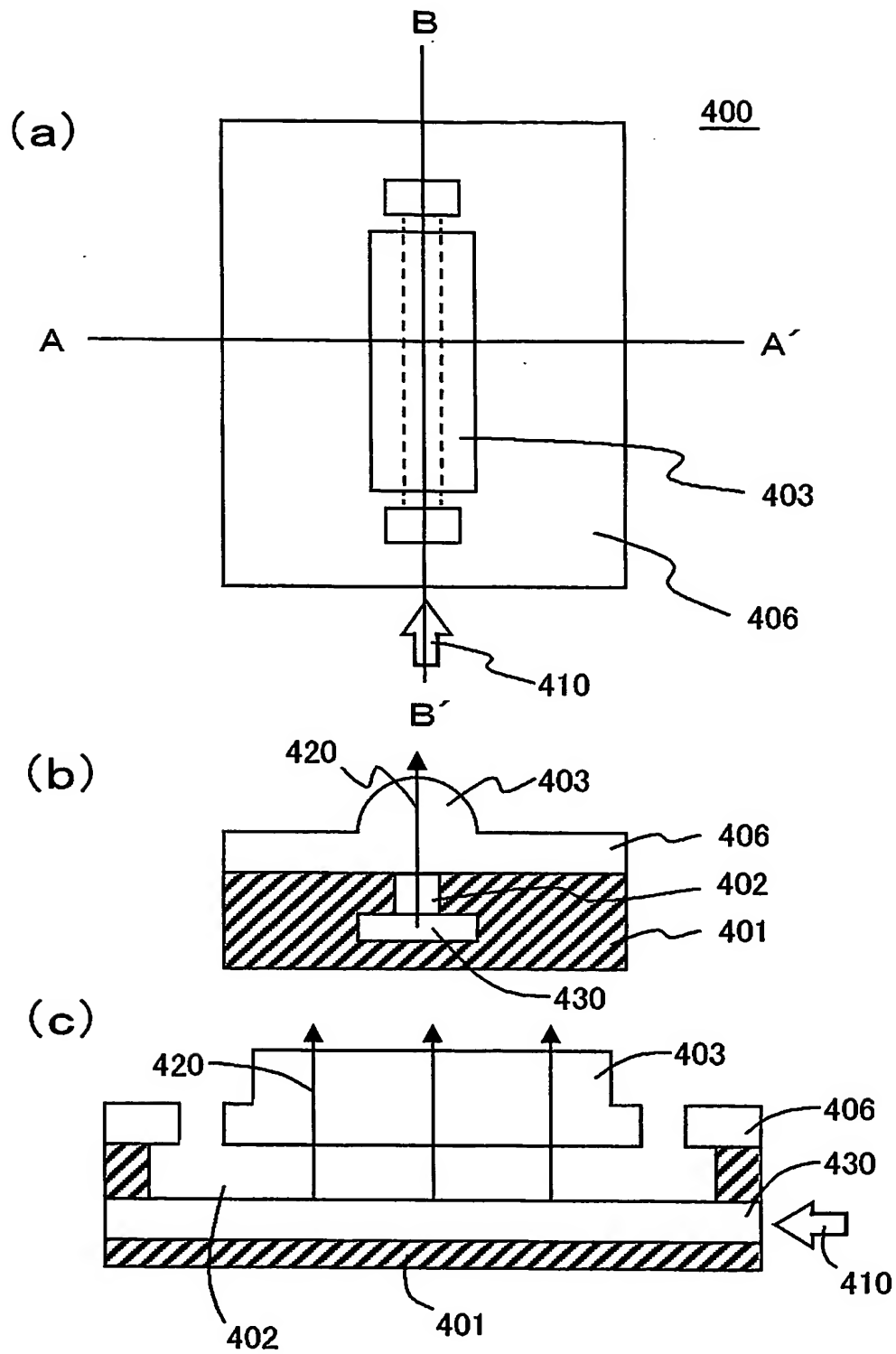
(a)



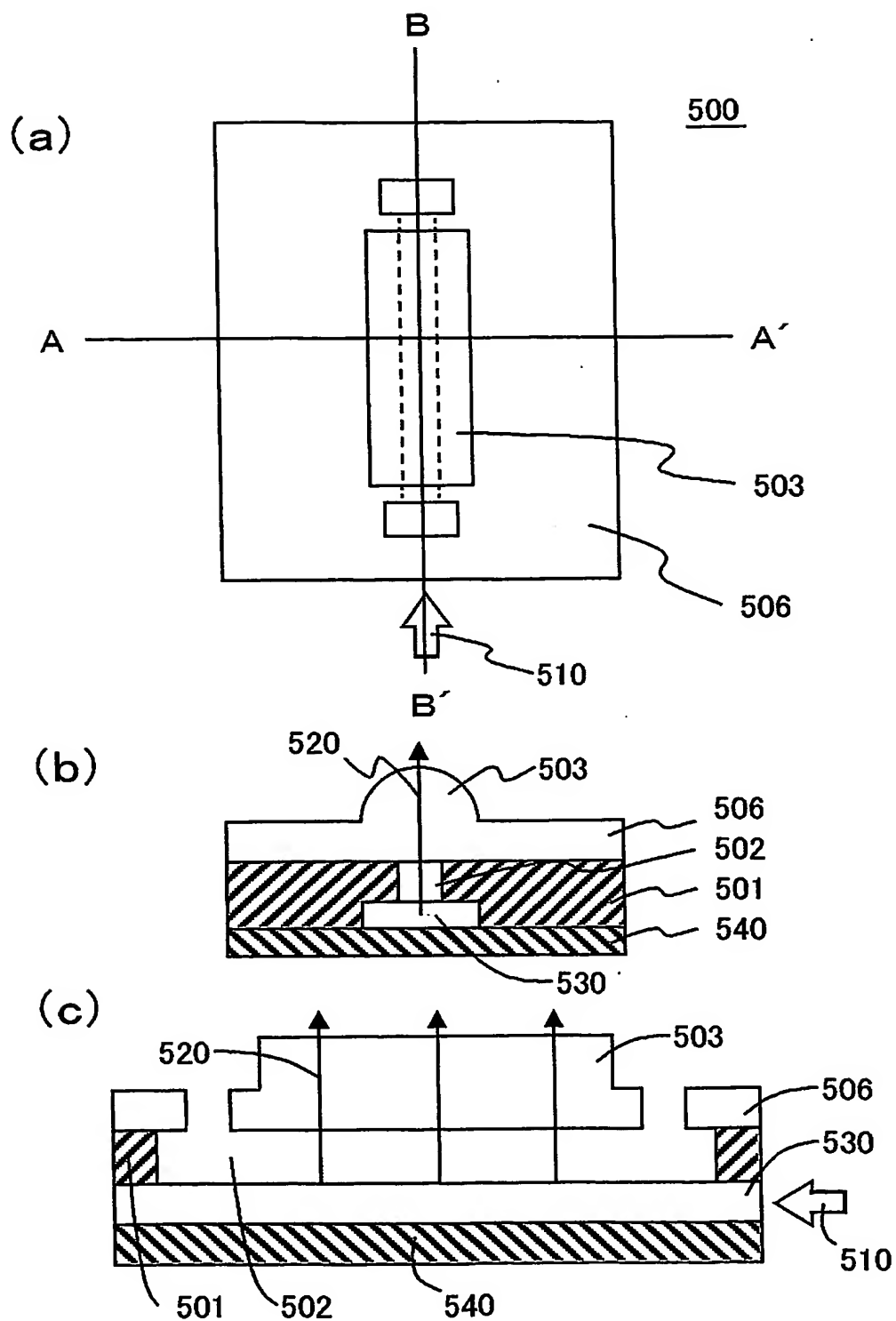
(b)



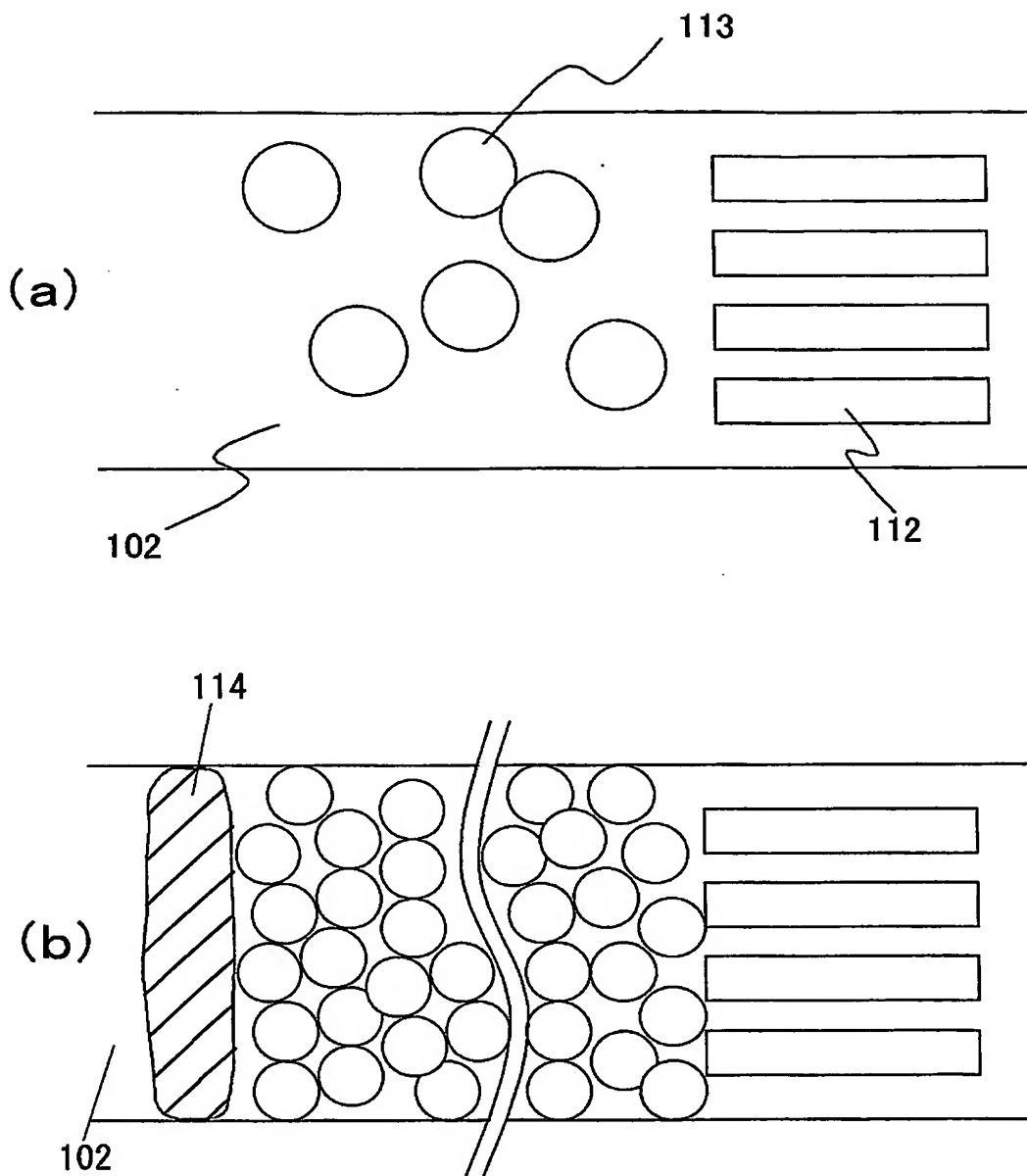
【図 8】



【図9】

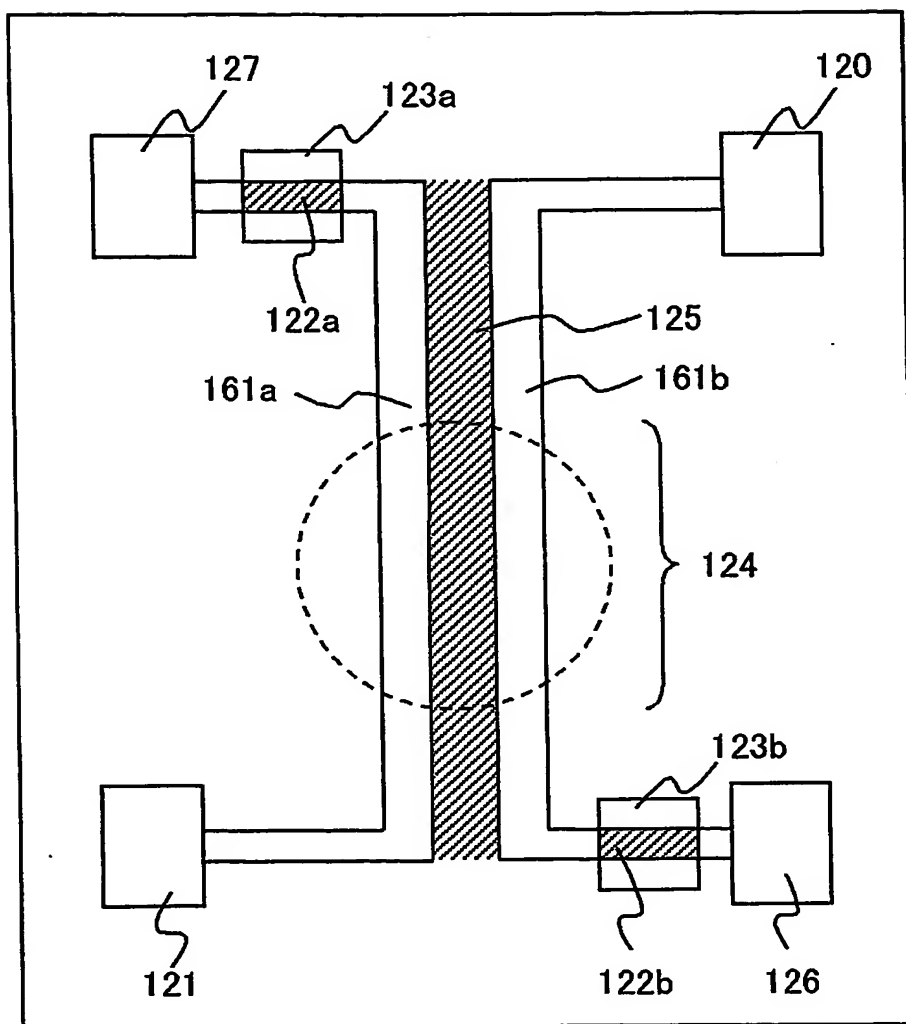


【図10】



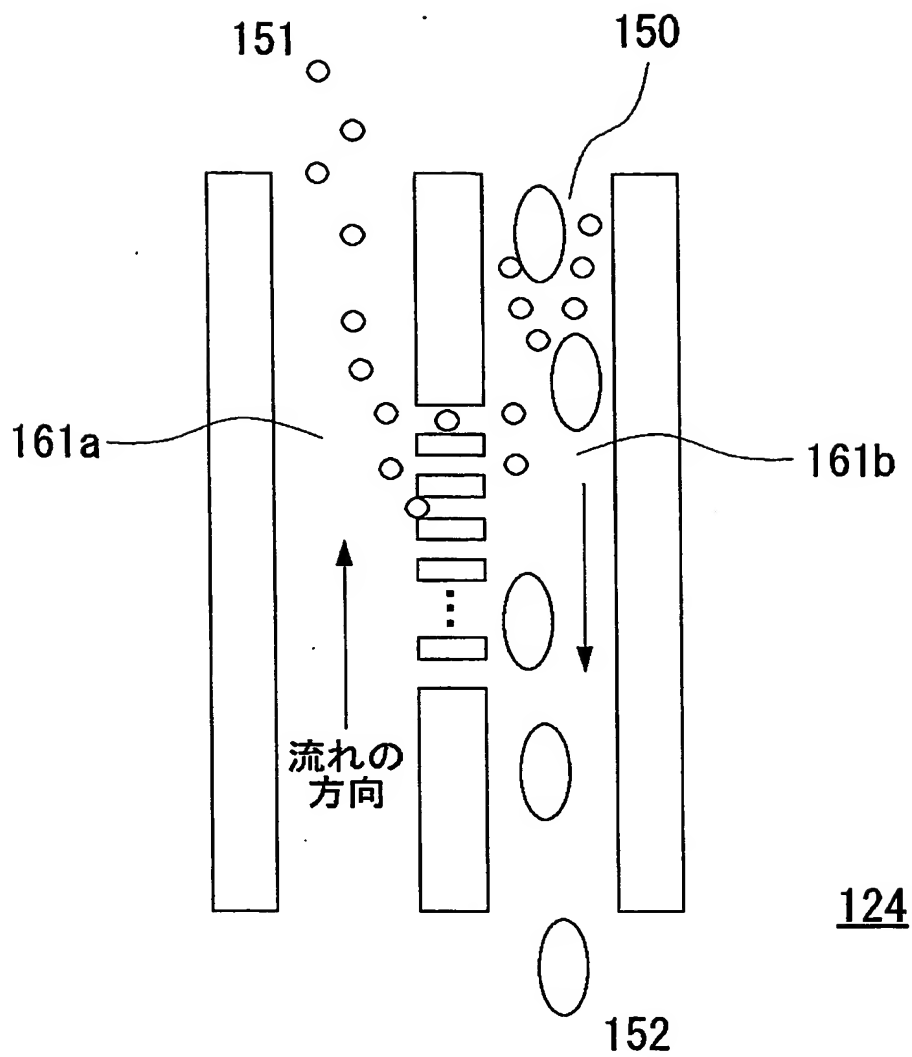


【図 11】

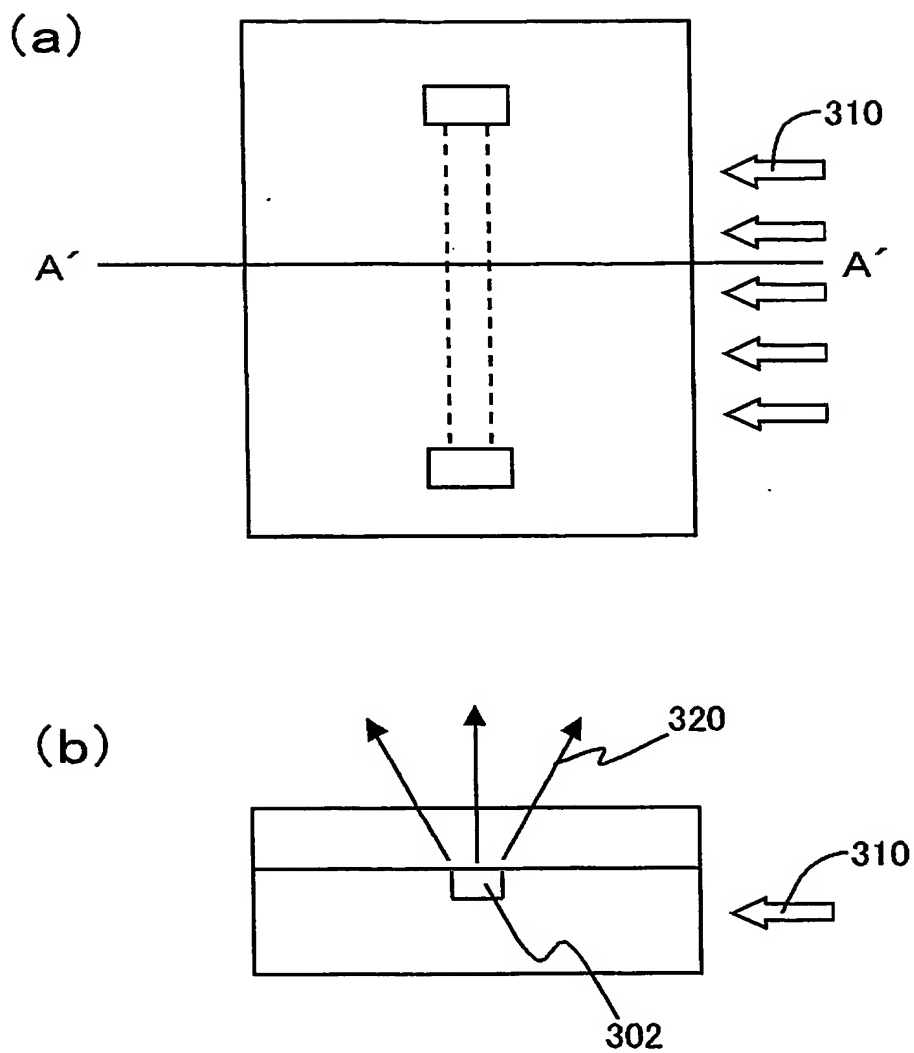


600

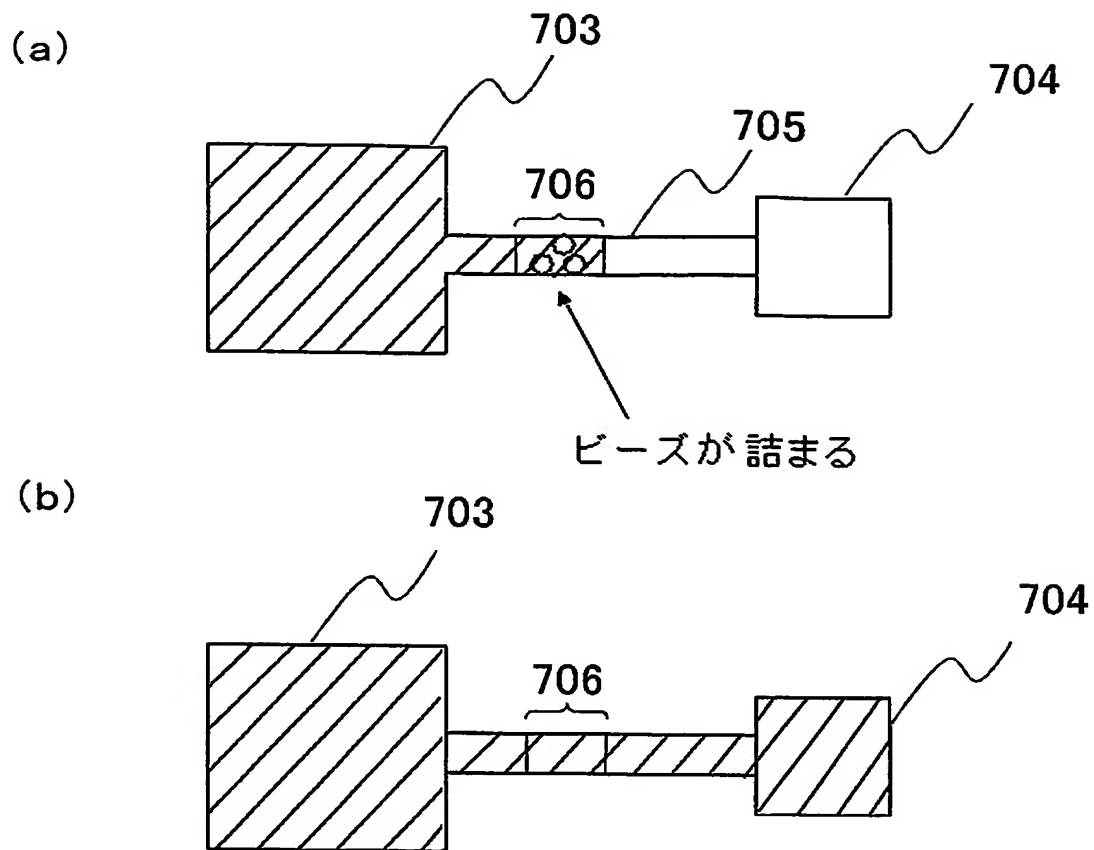
【図 12】



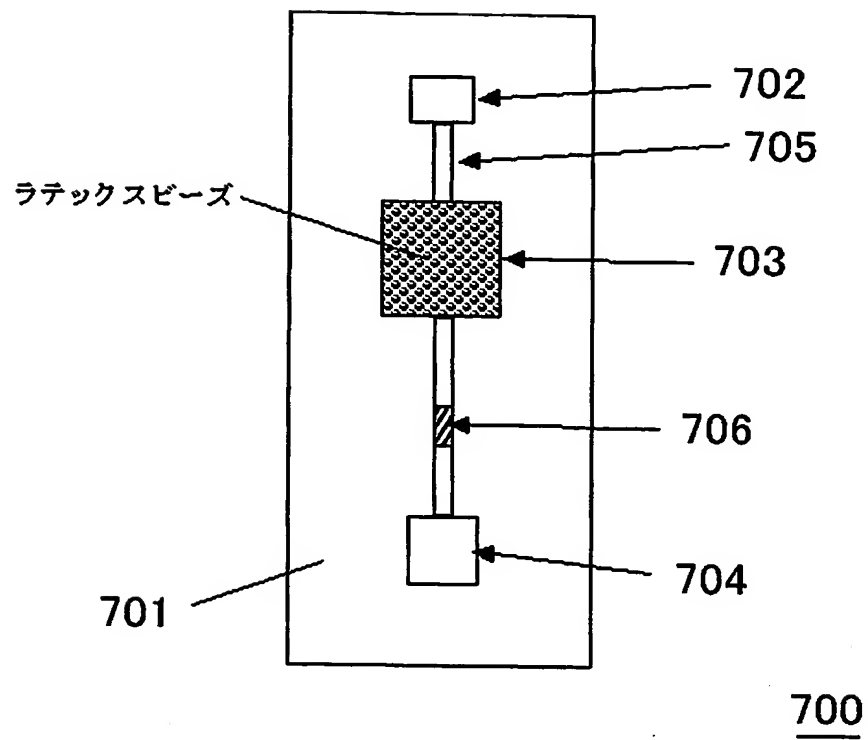
【図13】



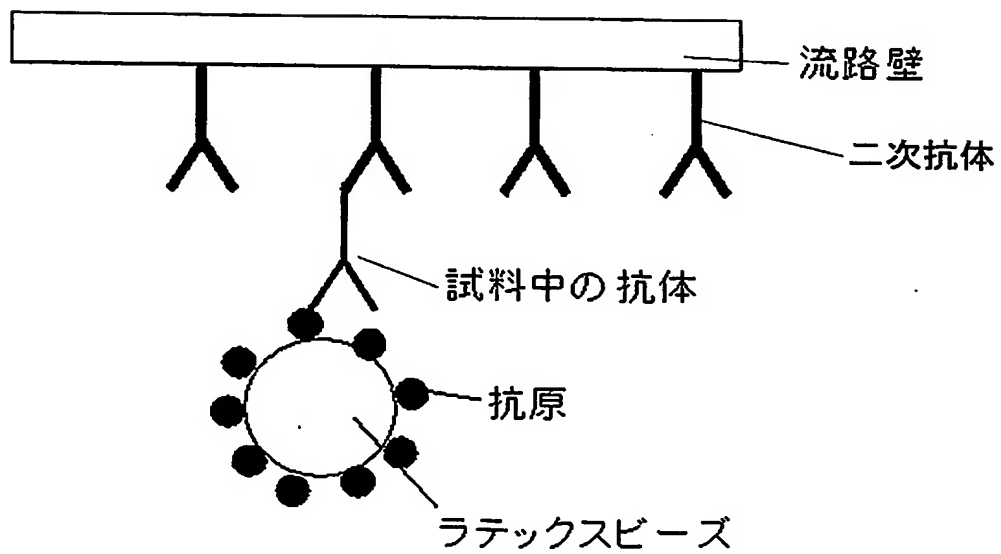
【図14】



【図 15】

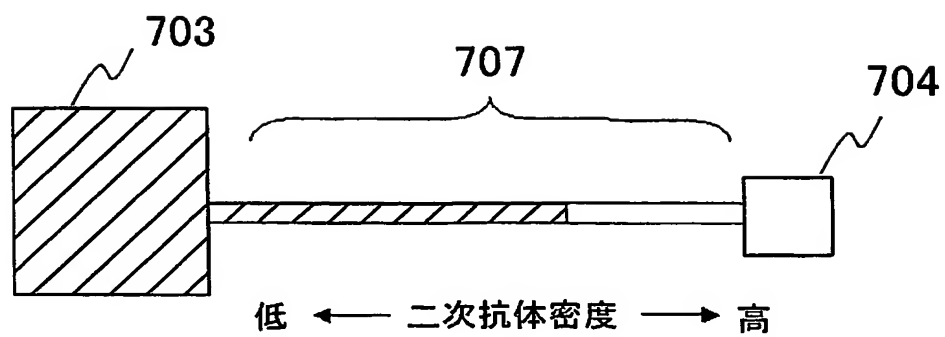


【図 16】

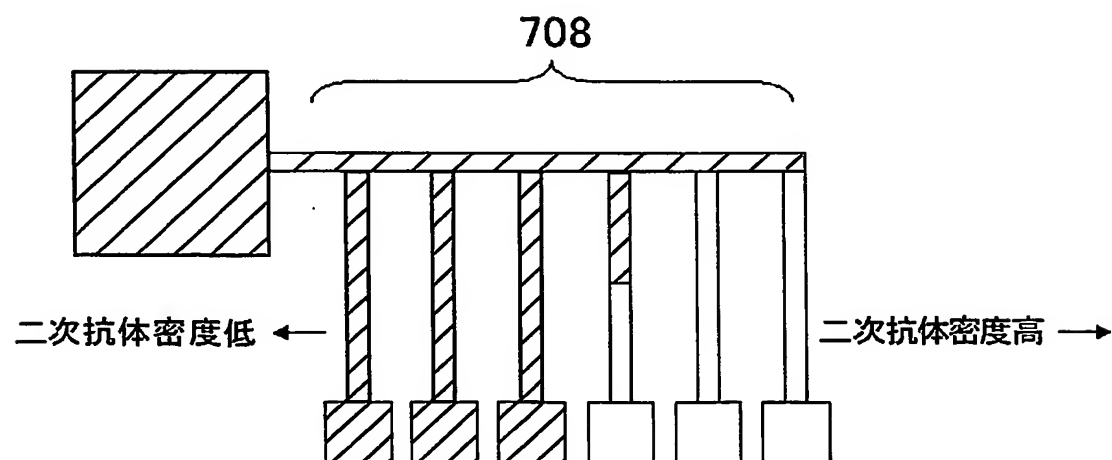


【図17】

(a)

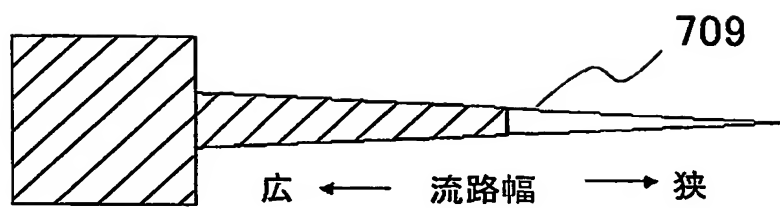


(b)

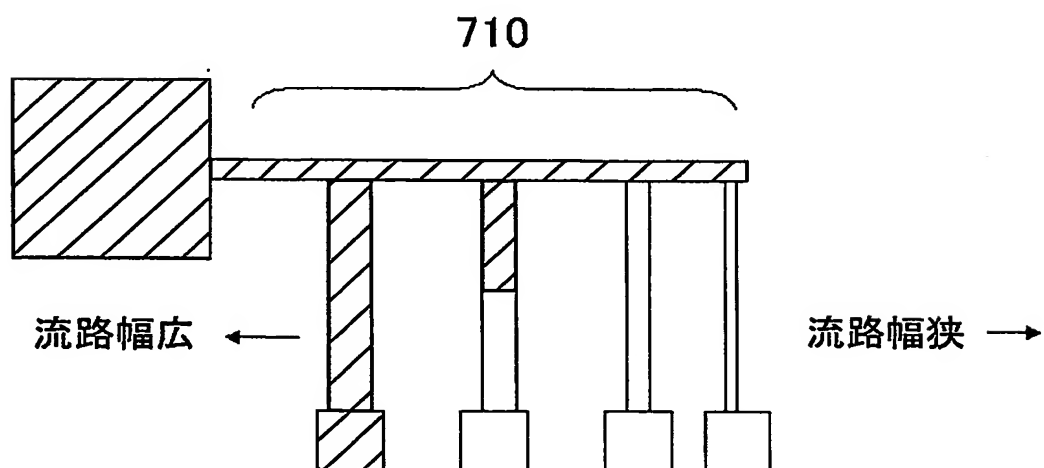


【図18】

(a)



(b)



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 検出・分析のための特別な外部機器を必要とせず、なおかつ検体を適用後、その場で迅速に目視により分析結果が得られる分析チップを提供する。

【解決手段】 特定成分の存在を検知することができ、かつ発色等により当該特定成分の存在を示すことができる試薬が含有された試薬層107が流路102に備えられた分析チップ100を用いる。試料は試料導入口104から注入され、試薬層107に展開させる。このときの反応の様子をマイクロレンズ103により拡大して観察する。

【選択図】 図3



特願 2002-226750

出願人履歴情報

識別番号

[000004237]

1. 変更年月日

1990年 8月29日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都港区芝五丁目7番1号

氏 名

日本電気株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**